

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

**PCT****NOTIFICATION CONCERNANT UNE DEMANDE  
INTERNATIONALE CONSIDEREE COMME  
RETIREE**

(article 14.1),3) ou 4) et règle 29.1 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

United States Patent and Trademark  
Office  
(Box PCT)  
Washington D.C. 20231  
United States of America

en sa qualité d'office désigné

<b>Date d'expédition</b> (jour/mois/année) 04 octobre 1995 (04.10.95)	<b>NOTIFICATION IMPORTANTE</b>
<b>Demande internationale no</b> PCT/BE95/00063	<b>Date du dépôt international</b> (jour/mois/année) 30 juin 1995 (30.06.95)
<b>Déposant</b> SOLAR AND ROBOTICS S.A.	

1. Le Bureau international fait savoir que l'office récepteur a, à la date indiquée ci-dessous, notifié au déposant une déclaration selon laquelle la demande internationale doit être considérée comme retirée:

28 septembre 1995 (28.09.95)

2. ☐ Une copie de la présente notification a été envoyée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international.

<b>Bureau international de l'OMPI</b> 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse	<b>Fonctionnaire autorisé</b>  M.J.Devillard
no de télécopieur: (41-22) 740.14.35	no de téléphone: (41-22) 730.91.11

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

REQU

26.-9-1996

Expéditeur : L'ADMINISTRATION CHARGÉE DE  
L'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

14 JAN 1997

OFFICE VAN MALDEREN

Destinataire

VAN MALDEREN, Eric  
Office VAN MALDEREN  
Place Reine Fabiola  
B-1080 BRUXELLES  
BELGIQUE

6/1 REQU

26.-9-1996

OFFICE VAN MALDEREN

## NOTIFICATION DE TRANSMISSION DU RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(règle 61.1 DU PCT)

Date d'expédition  
(jour/mois/année)

24 SEP 1996

Référence du dossier du déposant ou du mandataire

P. CDFR. 02/WO

### NOTIFICATION IMPORTANTE

Demande internationale n°

PCT/BE 95/ 00068

Date du dépôt international (jour/mois/année)

14/07/1995

Date de Priorité (jour/mois/année)

14/07/1994

Déposant

CROIX-ROUGE DE BELGIQUE et al.

1. Il est notifié au déposant que l'administration chargée de l'examen préliminaire internationale a établi le rapport d'examen préliminaire international pour la demande internationale et le lui transmet ci-joint, accompagné, le cas échéant, de ces annexes.

2. Une copie du présent rapport et, le cas échéant, de ses annexes, est transmise au Bureau international pour communication à tous les offices élus.

3. Si tel ou tel office élu l'exige, le Bureau international établira une traduction en langue anglaise du rapport (à l'exclusion des annexes de celui-ci) et la transmettra aux offices intéressés.

#### 4. RAPPEL

Pour aborder la phase national auprès de chaque office élu, le déposant doit accomplir certains actes (dépôt de traduction et paiement des taxes nationales) dans le délai de 30 mois à compter de la date de priorité (ou plus tard pour ce qui concerne certains offices) (article 39.1) (voir aussi le rappel envoyé par le Bureau international dans le formulaire PCT/IB/301).

Lorsqu'une traduction de la demande internationale doit être remise à un office élu, elle doit comporter la traduction de toute annexe du rapport d'examen préliminaire international. Il appartient au déposant d'établir la traduction en question et de la remettre directement à chaque office élu intéressé.

Pour plus de précisions en ce qui concerne les délais applicables et les exigences des offices élus, voir le Volume II du Guide du déposant du PCT.

Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international



Office Européen des Brevets  
D-80298 Munich  
Tel. (+49-89) 2399-0, Tx: 523656 cpmu d  
Fax: (+49-89) 2399-4465

Fonctionnaire autorisé

N° de l'éléphone

Peter Ehrenreich

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

Expéditeur: l'OFFICE RECEPTEUR

Destinataire: <div style="font-family: cursive; font-size: 1.2em; margin-top: 10px;">             van Nolderen Zrie              Office van Nolderen              Place Reine Fabiola              6/1              1080 Bruxelles           </div>	<div style="text-align: right; font-weight: bold; font-size: 1.5em;">PCT</div> <div style="text-align: right; font-weight: bold; font-size: 1.2em;">493260</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;">             NOTIFICATION DU NUMERO DE LA DEMANDE              INTERNATIONALE ET DE LA DATE DU DEPOT              INTERNATIONAL           </div> <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">             (règle 20.5.c) du PCT)           </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;">             Date d'expédition              (jour/mois/année) <span style="float: right;">24. - 8 - 1995</span> </div>
--	--

Référence du dossier du déposant ou du mandataire <div style="font-family: cursive; font-size: 1.2em;">P. CDFR. 02/100</div>		NOTIFICATION IMPORTANTE	
Demande internationale n° <div style="font-family: cursive; font-size: 1.2em;">PCT/Be 95/00068</div>	Date du dépôt international (jour/mois/année) <div style="font-family: cursive; font-size: 1.2em;">14 juillet 1995</div>	Date de priorité (jour/mois/année) <div style="font-family: cursive; font-size: 1.2em;">14/07/94</div>	
Déposant <div style="font-family: cursive; font-size: 1.2em;">Crist Roupe de Belgique</div>			
Titre de l'invention <div style="font-family: cursive; font-size: 1.2em;">Séquence polypeptidique antigénique ..</div>			

1. Il est notifié au déposant que le numéro de demande internationale et la date de dépôt international indiqués plus haut ont été attribués à la demande internationale.

2. Il est également notifié au déposant que l'exemplaire original de la demande internationale

- ☒ a été transmis au Bureau international le 24 août 95
- ☐ n'a pas encore été transmis au Bureau international pour la raison indiquée ci-dessous et une copie de la présente notification a été envoyée au Bureau international\*
- ☐ parce que l'autorisation relative à la défense nationale n'a pas encore été obtenue.
- ☐ parce que (explication):

\* Le Bureau international surveille la transmission de l'exemplaire original par l'office récepteur et en notifiera la réception au déposant (au moyen du formulaire PCT/IB/301). Au cas où l'exemplaire original ne lui serait pas parvenu à l'expiration d'un délai de 14 mois à compter de la date de priorité, le Bureau international en avisera le déposant (règle 22.1.c)).

Nom et adresse postale de l'office récepteur	Fonctionnaire autorisé <div style="font-family: cursive; font-size: 1.2em; margin-top: 10px;">Lemoir</div>
n° de télécopieur	n° de téléphone <div style="font-family: cursive; font-size: 1.2em; margin-top: 10px;">02/206-48-46</div>

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

Expéditeur : l'OFFICE RECEPTEUR

**PCT 492536**

Destinataire : *Van Molderen Gie*  
*Office van Molderen*  
*6/1 Place René Fribols*  
*1080 Bruxelles*

NOTIFICATION DE RECEPTION DES DOCUMENTS  
 SUPPOSES CONSTITUER UNE DEMANDE  
 INTERNATIONALE

(instruction administrative 301 du PCT)

Date d'expédition  
 (jour/mois/année) **18. -7- 1995**

Référence du dossier du déposant ou du mandataire  
**P C D F R. 02/W0**

NOTIFICATION IMPORTANTE

Demande internationale n°  
**PCT/BE95/00063**

Date de réception  
 (jour/mois/année) **14 -07- 1995** 14 JUN 1995

Déposant *Croix Rouge de Belgique*

Titre de l'invention *Séquence polypeptidique antigénique du facteur*  
*VIII fragments et/ou épîtres de celle-ci*

1. Il est notifié au déposant que l'office récepteur a reçu à la date de réception indiquée ci-dessus des documents supposés constituer une demande internationale.
2. L'attention du déposant est appelée sur le fait que l'office récepteur n'a pas encore vérifié si ces documents satisfont aux conditions de l'article 11.1), c'est-à-dire s'ils remplissent les conditions nécessaires pour que soit attribuée une date de dépôt international.
3. Dès que l'office récepteur aura vérifié ces documents, il en avisera le déposant.
4. Le numéro de demande internationale indiqué plus haut a été provisoirement attribué à ces documents. Le déposant est invité à mentionner ce numéro dans toute correspondance avec l'office récepteur.

Nom et adresse postale de l'office récepteur  
 Nieuw adres vanaf  
 20 juni 1995 - NG III  
 E. Jacqueminaan 154  
 1210 BRUSSEL  
 Tel.: (02) 206 41 11

Fonctionnaire autorisé

*Lanois*

n° de télécopieur

n° de téléphone

*02/206 48-46*

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

Expéditeur : l'ADMINISTRATION CHARGÉE DE  
LA RECHERCHE INTERNATIONALE

## PCT

REÇU

NOTIFICATION DE RECEPTION  
DE LA COPIE DE RECHERCHE

- 8. - 9 - 1995

(règle 25.1 du PCT)

OFFICE VAN MALDEREN

Destinataire

Office VAN MALDEREN  
A l'att. de VAN MALDEREN, Eric  
Place Reine Fabiola 6/1  
1080 BRUXELLES  
BELGIUM

Date d'expédition  
(jour/mois/année)

04/09/95

Référence du dossier du déposant ou du mandataire

P. CDFR. 02/WO

NOTIFICATION IMPORTANTE

Demande internationale n°

PCT/BE 95/00068

Date du dépôt international (jour/mois/année)

14/07/95

(Date de priorité (la plus ancienne)  
(jour/mois/année)

14/07/94

Déposant

CROIX-ROUGE DE BELGIQUE et al.

1. Lorsque l'administration chargée de la recherche internationale et l'office récepteur ne sont pas le même office:

Il est notifié au déposant que la copie de recherche de la demande internationale est parvenue à l'administration chargée de la recherche internationale à la date indiquée ci-dessous.

Lorsque l'administration chargée de la recherche internationale et l'office récepteur sont le même office:

Il est notifié au déposant que la copie de recherche de la demande internationale a été reçue à la date indiquée ci-dessus.

28/08/95

(date de réception).

*du*

2. Délai d'établissement du rapport de recherche internationale

Il est porté à la connaissance du déposant que le délai d'établissement du rapport de recherche internationale est de trois mois à compter de la date de réception indiquée ci-dessus ou de neuf mois à compter de la date de priorité, selon l'échéance la plus tardive.

3. Une copie de la présente notification a été envoyée au Bureau international et, dans le cas visé à la première phrase du paragraphe 1, à l'Office récepteur.

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la  
recherche internationale



Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL-2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

ISA/EP

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## PCT

REÇU

23.-2-1996

OFFICE VAN MALDEREN

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire <b>P. CDFR. 02/WO</b>	<b>POUR SUITE</b> voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après <b>A DONNER</b>	
Demande internationale n° <b>PCT/ BE 95/ 00068</b>	Date du dépôt international (jour/mois/année) <b>14/07/95</b>	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) <b>14/07/94</b>
Déposant <b>CROIX-ROUGE DE BELGIQUE et al.</b>		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 6 feuilles.

☐ Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

- ☒ Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (voir le cadre I).
- ☒ Il y a absence d'unité de l'invention (voir le cadre II).
- ☒ La demande internationale contient la divulgation d'un listage de séquence de nucléotides ou d'acides aminés et la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage de séquence.
  - ☐ déposé avec la demande internationale
  - ☒ fourni par le déposant séparément de la demande internationale
    - ☐ sans être accompagnée d'une déclaration selon laquelle il n'iclut pas d'éléments allant au-delà de la divulgation faite dans la demande internationale telle qu'elle a été déposée.
  - ☐ transcrit par l'administration
- En ce qui concerne le titre, ☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.
  - ☐ Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:
- En ce qui concerne l'abrégé,
  - ☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant
  - ☐ le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.
- La figure des dessins à publier avec l'abrégé est la suivante:  
Figure n° 1
  - ☐ suggérée par le déposant.
  - ☒ parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.
  - ☐ parce que cette figure caractérise mieux l'invention.

☐ Aucune des figures n'est à publier.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)**

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☒ Les revendications n<sup>os</sup> 28,29 se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:  
Remarque: Bien que les revendications 28 et 29 concernent une méthode de traitement du corps humain, la recherche a été effectuée et basée sur les effets imputés au produit
2. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
3. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

**Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)**

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. revendications 1- 5 et (partiellement) 17-30
  2. revendications 9-10 et (partiellement) 6,15-30
  3. revendications 11-12 et (partiellement) 6,15-30
  4. revendications 7- 8 et (partiellement) 6,15-30
  5. revendications 13-14 et (partiellement) 6,15-30
- Voir feuille additionnelle PCT/IS/210

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n<sup>os</sup>:
4. ☒ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n<sup>os</sup>:  
1-5 et (partiellement) 17-30

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## SUIITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUÉS SUR PCT/ISA/210

1. Sequence polypeptidique antigenique du facteur VIII depourvue des fragments ala322-ser750, leu1655-arg1689, lys1694-pro1782 et asp2170-tyr2332
2. Fragment antigenique de la sequence polypeptidique A1, inhibiteurs et anti-inhibiteurs de cette sequence, composition pharmaceutique et dispositif de diagnostic contenant les molécules sus-mentionnées.
3. Fragment antigenique de la séquence polypeptidique A2, inhibiteurs et anti-inhibiteurs de cette séquence, composition pharmaceutique et dispositif de diagnostic contenant les molécules sus-mentionnées.
4. Fragment antigenique de la séquence polypeptidique A3, inhibiteurs et anti-inhibiteurs de cette séquence, composition pharmaceutique et dispositif de diagnostic contenant les molécules sus-mentionnées.
5. Fragment antigenique de la séquence polypeptidique C, inhibiteurs et anti-inhibiteurs de cette séquence, composition pharmaceutique et dispositif de diagnostic contenant les molécules sus-mentionnées.

-----

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



## Cadre III TEXTE DE L'ABREGE (suite du point 5 de la première feuille)

La présente invention concerne une séquence polypeptidique antigénique du facteur VIII, comprise entre l'Acide Glutamique 1649 et l'Asparagine 2019, de préférence comprise entre l'Arginine 1652 et l'Arginine 1917 de la séquence polypeptidique du facteur VIII, ou comprise entre l'Alanine 108 et la Méthionine 355, ou comprise entre l'Acide Aspartique 403 et l'Acide Aspartique 725, ou comprise entre la Lysine 2085 et la Lysine 2249.

-----

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE		
CIB 6	C07K14/755 A61K39/395	C07K16/36 C07K16/42 A61K38/37 G01N33/68
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)		
CIB 6 C07K		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	NATURE, vol. 312, pages 337-342, G. VEHAR ET AL 'Structure of human factor VIII'	1,3-5, 17-19, 22-30
Y	voir le document en entier	2-5, 17-30
Y	--- PROTEIN ENGINEERING, vol. 2, no. 4, pages 310-306, XP 000023666 P. MULIEN ET AL 'A new recombinant procoagulant protein derived from the cDNA encoding human factor VIII' voir le document en entier --- -/-	2-5, 17-30
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
13 Février 1996		20.02.96
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé  Van der Schaal, C

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	<p>BIOCHEMISTRY, vol. 25, pages 8343-8347, D. EATON ET AL 'Construction and characterization of an active factor VIII variant lacking the central one-third of the molecule' voir le document en entier ---</p>	2-5, 17-30
Y	<p>EP,A,0 202 853 (SCRIPPS CLINIC RES) 26 Novembre 1986 voir le document en entier ---</p>	17-30
A	<p>PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 85, WASHINGTON US, pages 6152-6156, D. SCANDELLA ET AL 'Epitope mapping of human factor VIII inhibitor antibodies by deletion analysis of factor VIII fragments expressed by E. coli' voir le document en entier -----</p>	

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/BE 95/00068

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP-A-0202853	26-11-86	US-A- 4649132	10-03-87
		AU-B- 5730286	27-11-86
		JP-A- 62012722	21-01-87
		US-A- 4769336	06-09-88
-----			

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



# TRAITE D'COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

Expéditeur : l'ADMINISTRATION CHARGÉE DE  
LA RECHERCHE INTERNATIONALE

## PCT

NOTIFICATION DE TRANSMISSION DU  
RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE  
OU DE LA DECLARATION

(règle 44.1 du PCT)

Destinataire <b>Office VAN MALDEREN</b> A l'att. de VAN MALDEREN, Eric Place Reine Fabiola 6/1 B-1080 BRUXELLES BELGIUM	<div style="border: 2px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;"> <b>REÇU</b>  <b>23.-2-1996</b>  <b>OFFICE VAN MALDEREN</b> </div>
--	--

Référence du dossier du déposant ou du mandataire <b>P. CDFR. 02/WO</b>	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir les paragraphes 1 et 4 ci-après
Demande internationale n° <b>PCT/ BE 95/ 00068</b>	Date du dépôt international (jour/mois/année) <b>14/07/95</b>
Déposant <b>CROIX-ROUGE DE BELGIQUE et al.</b>	

1. ☒ Il est notifié au déposant que le rapport de recherche internationale a été établi et lui est transmis ci-joint

**Dépôt de modifications et d'une déclaration selon l'article 19 :**  
 Le déposant peut, s'il le souhaite, modifier les revendications de la demande internationale (voir la règle 46):

**Quand?** Le délai dans lequel les modifications doivent être déposées est de deux mois à compter de la date de transmission du rapport de recherche internationale ; pour plus de précisions, voir cependant les notes figurant sur la feuille d'accompagnement.

**Où?** Auprès du Bureau internationale de l'OMPI  
 34, chemin des Colombettes  
 1211 Genève 20, Suisse  
 n° de télécopieur: (41-22)740.14.35

Pour des instructions plus détaillées, voir les notes sur la feuille d'accompagnement

2. ☐ Il est notifié au déposant qu'il ne sera pas établi de rapport de recherche internationale et la déclaration à cet effet, prévue à l'article 17.2)a), est transmise ci-joint.

3. ☐ En ce qui concerne la réserve pouvant être formulée, conformément à la règle 40.2, à l'égard du paiement d'une ou de plusieurs taxes additionnelles, il est notifié au déposant que

☐ la réserve ainsi que la décision y relative ont été transmises au Bureau international en même temps que la requête du déposant tendant à ce que le texte de la réserve et celui de la décision en question soient notifiés aux offices désignés.

☐ la réserve n'a encore fait l'objet d'aucune décision; dès qu'une décision aura été prise, le déposant en sera avisé.

4. **Mesure(s) consécutive(s) :** Il est rappelé au déposant ce qui suit:

Peu après l'expiration d'un délai de 18 mois à compter de la date de priorité, la demande internationale sera publiée par le Bureau international. Si le déposant souhaite éviter ou différer la publication, il doit faire parvenir au Bureau international une déclaration de retrait de la demande internationale, ou de la revendication de priorité, conformément aux règles 90bis.1 et 90bis.3, respectivement, avant l'achèvement de la préparation technique de la publication internationale.

Dans un délai de 19 mois à compter de la date de priorité, le déposant doit présenter la demande d'examen préliminaire international s'il souhaite que l'ouverture de la phase nationale soit reportée à 30 mois à compter de la date de priorité (ou même au-delà dans certains offices).

Dans un délai de 20 mois à compter de la date de priorité, le déposant doit accomplir les démarches prescrites pour l'ouverture de la phase nationale auprès de tous les offices désignés qui n'ont pas été élus avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou qui ne pouvaient pas être élus parce qu'ils ne sont pas liés par le chapitre II.

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale <div style="display: flex; align-items: center;"> <div>                         Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2                          NL-2280 HV Rijswijk                          Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,                          Fax: (+ 31-70) 340-3016                     </div> </div>	Fonctionnaire autorisé <div style="text-align: right; margin-top: 10px;">                           D. van der Vliet                          tel: (070) 340-8368                          The Hague                     </div>
---	--

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## NOTES RELATIVES AU FORMULAIRE PCT/ISA/220

Les présentes notes sont destinées à donner les instructions essentielles concernant le dépôt de modifications selon l'article 19. Les notes sont fondées sur les exigences du Traité de coopération en matière de brevets (PCT), du règlement d'exécution et des instructions administratives du PCT. En cas de divergence entre les présentes notes et ces exigences, ce sont ces dernières qui priment. Pour de plus amples renseignements, on peut aussi consulter le Guide du déposant du PCT, qui est une publication de l'OMPI.

Dans les présentes notes, les termes "articles", "règle" et "instruction" renvoient aux dispositions du traité, de son règlement d'exécution et des instructions administratives du PCT, respectivement.

### INSTRUCTIONS CONCERNANT LES MODIFICATIONS SELON L'ARTICLE 19

Après réception du rapport de recherche internationale, le déposant a la possibilité de modifier une fois les revendications de la demande internationale. On notera cependant que, comme toutes les parties de la demande internationale (revendications, description et dessins) peuvent être modifiées au cours de la procédure d'examen préliminaire international, il n'est généralement pas nécessaire de déposer de modifications des revendications selon l'article 19 sauf, par exemple, au cas où le déposant souhaite que ces dernières soient publiées aux fins d'une protection provisoire ou a une autre raison de modifier les revendications avant la publication internationale. En outre, il convient de rappeler que l'obtention d'une protection provisoire n'est possible que dans certains Etats.

#### Quelles parties de la demande internationale peuvent être modifiées?

Les revendications exclusivement.

La description et les dessins ne peuvent être modifiés que pendant l'examen préliminaire international selon le chapitre II.

#### Quand?

Dans un délai de deux mois à compter de la date de transmission du rapport de recherche internationale ou de 16 mois à compter de la date de priorité, selon l'échéance la plus tardive. Il convient cependant de noter que les modifications seront réputées avoir été reçues en temps voulu si elles parviennent au Bureau international après l'expiration du délai applicable mais avant l'achèvement de la préparation technique de la publication internationale (règle 46.1).

#### Où ne pas déposer les modifications?

Les modifications ne peuvent être déposées qu'auprès du Bureau international; elles ne peuvent être déposées ni auprès de l'office récepteur ni auprès de l'administration chargée de la recherche internationale (règle 46.2).

Lorsqu'une demande d'examen préliminaire international a été/est déposée, voir plus loin.

#### Comment?

Soit en supprimant entièrement une ou plusieurs revendications, soit en ajoutant une ou plusieurs revendications nouvelles ou encore en modifiant le texte d'une ou de plusieurs des revendications telles que déposées.

Une feuille de remplacement doit être remise pour chaque feuille des revendications qui, en raison d'une ou de plusieurs modifications, diffère de la feuille initialement déposée.

Toutes les revendications figurant sur une feuille de remplacement doivent être numérotées en chiffres arabes. Si une revendication est supprimée, il n'est pas obligatoire de renuméroter les autres revendications. Chaque fois que des revendications sont renumérotées, elles doivent l'être de façon continue (instruction 205.b)).

#### Quels documents doivent/peuvent accompagner les modifications?

##### Lettre (instruction 205.b)):

Les modifications doivent être accompagnées d'une lettre.

La lettre ne sera pas publiée avec la demande internationale et les revendications modifiées. Elle ne doit pas être confondue avec la "déclaration selon l'article 19.1)" (voir plus loin sous "Déclaration selon l'article 19.1)").

La lettre doit indiquer les différences existant entre les revendications telles que déposées et les revendications telles que modifiées. Elle doit indiquer en particulier, pour chaque revendication figurant dans la demande internationale (étant entendu que des indications identiques concernant plusieurs revendications peuvent être groupées), si

- i) la revendication n'est pas modifiée;
- ii) la revendication est supprimée;
- iii) la revendication est nouvelle;
- iv) la revendication remplace une ou plusieurs revendications telles que déposées;
- v) la revendication est le résultat de la division d'une revendication telle que déposée.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## NOTES RELATIVES AU FORMULAIRE PCT/ISA/220 (suite)

Les exemples suivants illustrent la manière dont les modifications doivent être expliquées dans la lettre d'accompagnement:

1. [Lorsque le nombre des revendications déposées initialement s'élevait à 48 et qu'à la suite d'une modification de certaines revendications il s'élève à 51]:  
"Revendications 1 à 15 remplacées par les revendications modifiées portant les mêmes numéros; revendications 30, 33 et 36 pas modifiées; nouvelles revendications 49 à 51 ajoutées."
2. [Lorsque le nombre des revendications déposées initialement s'élevait à 15 et qu'à la suite d'une modification de toutes les revendications il s'élève à 11]:  
"Revendications 1 à 15 remplacées par les revendications modifiées 1 à 11."
3. [Lorsque le nombre des revendications déposées initialement s'élevait à 14 et que les modifications consistent à supprimer certaines revendications et à en ajouter de nouvelles]:  
"Revendications 1 à 6 et 14 pas modifiées; revendications 7 à 13 supprimées; nouvelles revendications 15, 16 et 17 ajoutées." ou  
"Revendications 7 à 13 supprimées; nouvelles revendications 15, 16 et 17 ajoutées; toutes les autres revendications pas modifiées."
4. [Lorsque plusieurs sortes de modifications sont faites]:  
"Revendications 1-10 pas modifiées; revendications 11 à 13, 18 et 19 supprimées; revendications 14, 15 et 16 remplacées par la revendication modifiée 14; revendication 17 divisée en revendications modifiées 15, 16 et 17; nouvelles revendications 20 et 21 ajoutées."

### "Déclaration selon l'article 19.1)" (Règle 46.4)

Les modifications peuvent être accompagnées d'une déclaration expliquant les modifications et précisant l'incidence que ces dernières peuvent avoir sur la description et sur les dessins qui ne peuvent pas être modifiés selon l'article 19.1)).

La déclaration sera publiée avec la demande internationale et les revendications modifiées.

La déclaration doit être succincte (ne pas dépasser 500 mots si elle est établie ou traduite en anglais).

Elle ne doit pas être confondue avec la lettre expliquant les différences existant entre les revendications telles que déposées et les revendications telles que modifiées, et ne la remplace pas. Elle doit figurer sur une feuille distincte et doit être munie d'un titre permettant de l'identifier comme telle, constitué de préférence des mots "Déclaration selon l'article 19.1)"

Elle ne doit contenir aucun commentaire dénigrant relatif au rapport de recherche internationale ou à la pertinence des citations que ce dernier contient. Elle ne peut se référer à des citations se rapportant à une revendication donnée et contenues dans le rapport de recherche internationale qu'en relation avec une modification de cette revendication.

### En quelle langue?

Les modifications doivent être effectuées dans la langue dans laquelle la demande internationale est publiée. La lettre et toute déclaration accompagnant les modifications doivent être rédigées dans la même langue que la demande internationale si cette langue est le français ou l'anglais; sinon, elles doivent être rédigées en français ou en anglais, au choix du déposant.

### Conséquence du fait qu'une demande d'examen préliminaire international ait déjà été présentée

Si, au moment du dépôt de modifications effectuées en vertu de l'article 19, une demande d'examen préliminaire international a déjà été présentée, le déposant doit de préférence, lors du dépôt des modifications auprès du Bureau international, déposer également une copie de ces modifications auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 62.2a), première phrase).

### Conséquence au regard de la traduction de la demande internationale lors de l'ouverture de la phase nationale?

L'attention du déposant est appelée sur le fait qu'il peut avoir à remettre aux offices désignés ou élus, lors de l'ouverture de la phase nationale, une traduction des revendications telles que modifiées en vertu de l'article 19 au lieu de la traduction des revendications telles que déposées ou en plus de celle-ci.

Pour plus de précisions sur les exigences de chaque office désigné ou élu, voir le volume II du Guide du déposant du PCT.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

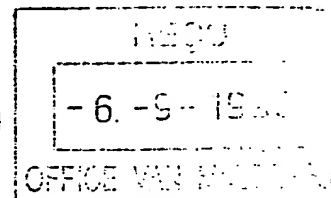
NOTIFICATION DE LA RECEPTION DE  
L'EXEMPLAIRE ORIGINAL

(règle 24.2.a) du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

VAN MALDEREN, Eric  
Office Van Malderen  
Place Reine Fabiola 6/1  
B-1080 Bruxelles  
BELGIQUE



Date d'expédition (jour/mois/année) 29 aout 1995 (29.08.95)	NOTIFICATION IMPORTANTE
Référence du dossier du déposant ou du mandataire P.CDFR.027WO	Demande internationale no PCT/BE95/00068

Il est notifié au déposant que le Bureau international a reçu l'exemplaire original de la demande internationale précisée ci-après.

Noms du ou des déposants et de l'Etat ou des Etats pour lesquels ils sont déposants:

CROIX-ROUGE DE BELGIQUE (pour tous les Etats désignés sauf US)  
LAUB, Ruth etc. (pour US seulement)

Date du dépôt international : 14 juillet 1995 (14.07.95)

Date(s) de priorité revendiquée(s) : 14 juillet 1994 (14.07.94)

Date de réception de l'exemplaire original  
par le Bureau international : 28 aout 1995 (28.08.95)

Liste des offices désignés auxquels sera notifiée la réception de l'exemplaire original:

EP : AT,BE,CH,DE,DK,ES,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE  
National : CA,JP,US

## ATTENTION

Le déposant doit soigneusement vérifier les indications figurant dans la présente notification. En cas de divergence entre ces indications et celles que contient la demande internationale, il doit aviser immédiatement le Bureau international.

En outre l'attention du déposant est appelée sur les renseignements donnés dans l'annexe en ce qui concerne

- ☒ les délais dans lesquels doit être abordée la phase nationale
- ☒ la confirmation des désignations faites par mesure de précaution
- ☐ les exigences relatives aux documents de priorité.

Une copie de la présente notification est envoyée à l'office récepteur et à l'administration chargée de la recherche internationale.

Bureau international de l'OMPI  
34, chemin des Colombettes  
1211 Genève 20, Suisse

no de télécopieur: (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé

G. Bähr

no de téléphone: (41-22) 730.91.11

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



**RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LES DELAIS DANS LESQUELS DOIT ETRE ABORDEE  
LA PHASE NATIONALE**

Il est rappelé au déposant qu'il doit aborder la "phase nationale" auprès de chacun des offices désignés indiqués sur la notification de la réception de l'exemplaire original (formulaire PCT/IB/301) en payant les taxes nationales et en remettant les traductions, telles qu'elles sont prescrites par les législations nationales.

Le délai d'accomplissement de ces actes de procédure est de **20 mois** à compter de la date de priorité ou, pour les Etats désignés qui ont été élus par le déposant dans une demande d'examen préliminaire international ou dans une élection ultérieure, de **30 mois** (à compter de la date de priorité, à condition que cette élection ait été effectuée avant l'expiration du 19<sup>e</sup> mois à compter de la date de priorité. Certains offices désignés (ou élus) ont fixé des délais qui expirent au-delà de 20 ou 30 mois à compter de la date de priorité. D'autres offices accordent une prolongation des délais ou un délai de grâce, dans certains cas moyennant le paiement d'une taxe supplémentaire.

En plus de ces actes de procédure, le déposant devra dans certains cas satisfaire à d'autres exigences particulières applicables dans certains offices. Il appartient au déposant de veiller à remplir en temps voulu les conditions requises pour l'ouverture de la phase nationale. La majorité des offices désignés n'envoient pas de rappel à l'approche de la date limite pour aborder la phase nationale.

Des informations détaillées concernant les actes de procédure à accomplir pour aborder la phase nationale auprès de chaque office désigné, les délais applicables et la possibilité d'obtenir une prolongation des délais ou un délai de grâce et toutes autres conditions applicables figurent dans le volume II du Guide du déposant du PCT. Les exigences concernant le dépôt d'une demande d'examen préliminaire international sont exposées dans le chapitre IX du volume I du Guide du déposant du PCT.

L'attention du déposant est appelée sur le fait que CH/LI, ES et GR ne sont pas liés par le chapitre II du PCT (procédure d'examen préliminaire international) et, par conséquent, ne peuvent pas être élus dans une demande d'examen préliminaire international. Si CH/LI ou ES sont désignés en vue de l'obtention d'un brevet national, le déposant doit donc toujours aborder la phase nationale auprès des offices nationaux de ces Etats avant l'expiration du délai de 20 mois à compter de la date de priorité. Toutefois, si CH/LI, ES et GR sont désignés aux fins de l'obtention d'un brevet européen, le délai de 31 mois s'applique également à ces trois désignations pour autant qu'au moins un autre Etat désigné aux fins de l'obtention d'un brevet européen ait également été élu dans le délai de 19 mois à compter de la date de priorité.

Veuillez aussi noter que seul un déposant qui est ressortissant d'un Etat contractant du PCT lié par le chapitre II ou qui y a son domicile peut présenter une demande d'examen préliminaire international.

**CONFIRMATION DES DESIGNATIONS FAITES PAR MESURE DE PRECAUTION**

Seules les désignations expresses faites dans la requête conformément à la règle 4.9.a) figurent dans la présente notification. Il est important de vérifier si ces désignations ont été faites correctement. Des erreurs dans les désignations peuvent être corrigées lorsque des désignations ont été faites par mesure de précaution en vertu de la règle 4.9.b). Toute désignation ainsi faite peut être confirmée conformément aux dispositions de la règle 4.9.c) avant l'expiration d'un délai de 15 mois à compter de la date de priorité. En l'absence de confirmation, une désignation faite par mesure de précaution sera considérée comme retirée par le déposant. Il ne sera adressé aucun rappel ni invitation. Pour confirmer une désignation, il faut déposer une déclaration précisant l'Etat désigné concerné (avec l'indication de la forme de protection ou de traitement souhaitée) et payer les taxes de désignation et de confirmation. La confirmation doit parvenir à l'office récepteur dans le délai de 15 mois.

**EXIGENCES RELATIVES AUX DOCUMENTS DE PRIORITE**

Pour les déposants qui n'ont pas encore satisfait aux exigences relatives aux documents de priorité, il est rappelé ce qui suit.

Lorsque la priorité d'une demande nationale antérieure est revendiquée ("nationale" signifiant nationale ou régionale), le déposant doit présenter une copie de cette demande nationale, certifiée conforme par l'administration auprès de laquelle elle a été déposée ("document de priorité"), à l'office récepteur (qui la transmettra au Bureau international) ou directement au Bureau international, avant l'expiration d'un délai de 16 mois à compter de la date de priorité (règle 17.1).

Si le document de priorité est délivré par l'office récepteur, le déposant peut, au lieu de présenter ce document, demander à l'office récepteur de le préparer et de le transmettre au Bureau international. La requête à cet effet doit être formulée avant l'expiration du délai de 16 mois.

Il est rappelé que, lorsque plusieurs priorités sont revendiquées, la date de priorité à prendre en considération aux fins du calcul du délai de 16 mois est la date du dépôt de la demande la plus ancienne dont la priorité est revendiquée.

Si le document de priorité en question n'est pas fourni au Bureau international avant l'expiration du délai de 16 mois, ou si la demande adressée à l'office récepteur de transmettre le document de priorité n'a pas été faite (et la taxe correspondante acquittée, le cas échéant) avant l'expiration de ce délai, tout Etat désigné peut ne pas tenir compte de la revendication de priorité.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION RELATIVE A LA PRESENTATION  
DU DOCUMENT DE PRIORITE

(instruction administrative 411 du PCT)

Expéditeur : le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

VAN MALDEREN, Eric  
Office Van Malderen  
Place Reine Fabiola 6/1  
B-1080 Bruxelles  
BELGIQUE

Date d'expédition (jour/mois/année)

29 aout 1995 (29.08.95)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire

P.CDFR.027WO

## NOTIFICATION IMPORTANTE

Demande internationale no

PCT/BE95/00068

Date du dépôt international

14 juillet 1995 (14.07.95)

Date de priorité

14 juillet 1994 (14.07.94)

Déposant

CROIX-ROUGE DE BELGIQUE etc

La date de réception par le Bureau international du ou des documents de priorité correspondant à la ou aux demandes suivantes est notifiée au déposant:

Demande antérieure no:Date de priorité:Pays dans lequel ou pour lequel  
la demande a été déposée:Date de réception du  
document de priorité

9400666

14 jui 1994 (14.07.94)

BE

28 aou 1995 (28.08.95)

Bureau international de l'OMPI  
34, chemin des Colombettes  
1211 Genève 20, Suisse

no de télécopieur: (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé:

G. Bähr

no de téléphone: (41-22) 730.91.11

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

WO 96/02572  
PCT/BE95/00068

**PCT**

## AVIS INFORMANT LE DEPOSANT DE LA COMMUNICATION DE LA DEMANDE INTERNATIONALE AUX OFFICES DESIGNES

(règle 47.1.c), première phrase, du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

VAN MALDEREN, Eric  
Office Van Malderen  
Place Reine Fabiola 8/1  
B-1080 Bruxelles  
BELGIQUE

**REÇU**

**12.-2-1996**

**OFFICE VAN MALDEREN**

Date d'expédition (jour/mois/année) 01 février 1996 (01.02.96)		
Référence du dossier du déposant ou du mandataire P.CDFR.02XWO		
<b>- AVIS IMPORTANT</b>		
Demande internationale no PCT/BE95/00068	Date du dépôt international 14 juillet 1995 (14.07.95)	Date de priorité 14 juillet 1994 (14.07.94)
Déposant CROIX-ROUGE DE BELGIQUE etc		

- Il est notifié par la présente qu'à la date indiquée ci-dessus comme date d'expédition de cet avis, le Bureau international a communiqué, comme le prévoit l'article 20, la demande internationale aux offices désignés suivants:

CA,EP,JP,US

- Conformément à la règle 47.1.c), troisième phrase, chaque office désigné accepte le présent avis comme preuve déterminante du fait que la communication de la demande internationale a bien eu lieu à la date d'expédition indiquée plus haut, et le déposant n'est pas tenu de remettre de copie de la demande internationale à l'office ou aux offices désignés.
- Le présent avis est accompagné d'une copie de la demande internationale publiée par le Bureau international le 01 février 1996 (01.02.96) sous le numéro WO 96/02572

### RAPPEL CONCERNANT LE CHAPITRE II (article 31.2)a) et règle 54.2)

Si le déposant souhaite reporter l'ouverture de la phase nationale jusqu'à 30 mois (ou plus pour ce qui concerne certains offices) à compter de la date de priorité, la demande d'examen préliminaire international doit être présentée à l'administration compétente chargée de l'examen préliminaire international avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité.

Il appartient exclusivement au déposant de veiller au respect du délai de 19 mois.

Il est à noter que seul un déposant qui est ressortissant d'un Etat contractant du PCT lié par le chapitre II ou qui y a son domicile peut présenter une demande d'examen préliminaire international.

### RAPPEL CONCERNANT L'OUVERTURE DE LA PHASE NATIONALE (article 22 ou 39.1))

Si le déposant souhaite que la demande internationale procède en phase nationale, il doit, dans le délai de 20 mois ou de 30 mois, ou plus pour ce qui concerne certains offices, accomplir les actes mentionnés dans ces dispositions auprès de chaque office désigné ou élu.

Pour d'autres informations importantes concernant les délais et les actes à accomplir pour l'ouverture de la phase nationale, voir l'annexe du formulaire PCT/IB/301 (Notification de la réception de l'exemplaire original) et le volume II du Guide du déposant du PCT.

<p>Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse</p> <p>no de télécopieur: (41-22) 740.14.35</p>	<p>Fonctionnaire autorisé:</p> <p>J. Zahra</p> <p>no de téléphone: (41-22) 730.91.11</p>
---	--

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

INFORMATIONS RELATIVES AUX  
OFFICES ELUS QUI ONT RECU  
NOTIFICATION DE LEUR ELECTION

(règle 61.3 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

VAN MALDEREN, Michel  
Office Van Malderen  
Place Reine Fabiola 6/1  
B-1080 Bruxelles  
BELGIQUE

REÇU

- 7 - 3 - 1996

OFFICE VAN MALDEREN

EM

Date d'expédition: 01 mars 1996 (01.03.96)		
Référence du dossier du déposant ou du mandataire: P.CDFR.027WO		INFORMATION IMPORTANTE
Demande internationale no: PCT/BE95/00068	Date du dépôt international: 14 juillet 1995 (14.07.95)	Date de priorité: 14 juillet 1994 (14.07.94)
Déposant: CROIX-ROUGE DE BELGIQUE etc		

1. Le déposant est informé que le Bureau international a, conformément à l'article 31.7), notifié à chacun des offices suivants son élection:

EP : AT, BE, CH, DE, DK, FR, GB, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE  
National : CA, JP, US

Il est rappelé au déposant qu'il doit aborder la phase nationale auprès de chacun des offices mentionnés ci-dessus **avant l'expiration d'un délai de 30 mois à compter de la date de priorité**. Pour ce faire, il doit payer la ou les taxes nationales et remettre, si elle est prescrite, une traduction de la demande internationale (article 39.1)a) ainsi que, le cas échéant, une traduction de toute annexe du rapport d'examen préliminaire international (article 36.3)b) et règle 74.1.

Certains offices ont fixé des délais supérieurs au délai mentionné ci-dessus. Pour des renseignements détaillés au sujet des délais applicables et des actes à accomplir à l'ouverture de la phase nationale auprès d'un office donné, voir le volume II du Guide du déposant du PCT.

L'ouverture de la phase régionale européenne est différée jusqu'à l'expiration d'un délai de 31 mois à compter de la date de priorité pour la totalité des Etats désignés aux fins de l'obtention d'un brevet européen, y compris, le cas échéant, ES et GR qui n'ont pas pu être élus puisqu'ils ne sont pas liés par le chapitre II.

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse no de télécopieur: (41-22) 740.14.35	Fonctionnaire autorisé:  G. Bähr no de téléphone: (41-22) 730.91.11
--	--

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



La demande d'examen préliminaire international doit être présentée directement à l'administration chargée de l'examen préliminaire international qui est compétente ou, si plusieurs administrations sont compétentes, à l'une d'entre elles, au choix du déposant. Le déposant peut indiquer le nom complet ou le code à deux lettres de cette administration au dessus de la ligne qui suit :

IPEA/ \_\_\_\_\_

# PCT

## CHAPITRE II

### DEMANDE D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

selon l'article 31 du Traité de coopération en matière de brevets :

Le soussigné requiert que la demande internationale spécifiée ci-après fasse l'objet d'un examen préliminaire international conformément au Traité de coopération en matière de brevets.

Réservé à l'administration chargée de l'examen préliminaire international

Administration chargée de l'examen préliminaire international	Date de réception de la demande d'examen préliminaire international
---	---

Cadre n° I IDENTIFICATION DE LA DEMANDE INTERNATIONALE		Référence du dossier du déposant ou du mandataire P. CDFR. 02/WO
Demande internationale n° PCT/BE95/00068	Date du dépôt international (jour/mois/année) 14 juillet 1995	Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) 14 juillet 1994
Titre de l'invention SEQUENCE POLYPEPTIDIQUE ANTIGENIQUE DU FACTEUR VIII FRAGMENTS ET/OU EPITOPES DE CELLE-CI		
Cadre n° II DEPOSANT(S)		
Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays.)  CROIX-ROUGE DE BELGIQUE Département Central de Fractionnement rue Joseph Stallaert 5 B-1060 BRUXELLES BELGIQUE		n° de téléphone  n° de télécopieur  n° de télécopieur
Nationalité (nom de l'Etat) : BELGIQUE	Domicile (nom de l'Etat) : BELGIQUE	
Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays.)  LAUB Ruth Avenue Besme 6 B-1190 BRUXELLES BELGIQUE		
Nationalité (nom de l'Etat) : BELGIQUE	Domicile (nom de l'Etat) : BELGIQUE	
Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays.)  DI GIAMBATTISTA Mario rue Plouchart 24 B-7090 BRAINE-LE-COMTE BELGIQUE		
Nationalité (nom de l'Etat) : BELGIQUE	Domicile (nom de l'Etat) : BELGIQUE	
<input type="checkbox"/> D'autres déposants sont indiqués sur une feuille annexe.		

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## Cadre n° III MANDATAIRE OU REPRESENTANT COMMUN; OU ADRESSE POUR LA CORRESPONDANCE

La personne indiquée ci-dessous est ☒ mandataire ☐ représentant commun

- et ☐ a été désignée à une date antérieure; elle représente aussi le ou les déposants pour l'examen préliminaire international.
- ☐ est désignée par la présente; toute désignation antérieure de mandataires ou d'un représentant commun est de ce fait révoquée.
- ☐ est désignée par la présente, spécialement pour la procédure devant l'administration chargée de l'examen préliminaire international, en sus du ou des mandataires ou du représentant commun désignés antérieurement.

Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complétée. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays.)

VAN MALDEREN Michel  
OFFICE VAN MALDEREN  
Place Reine Fabiola 6/1  
B-1080 BRUXELLES  
BELGIQUE

n° de téléphone

02/4263810

n° de télécopieur

02/4263760

n° de téléimprimeur

63628 PATBEL

- ☐ Cocher cette case lorsque aucun mandataire ni représentant commun n'est/n'a pas été désigné et que l'espace ci-dessus est utilisé pour indiquer une adresse spéciale à laquelle la correspondance doit être envoyée.

## Cadre n° IV DECLARATION CONCERNANT LES MODIFICATIONS

Le déposant souhaite que l'administration chargée de l'examen préliminaire international\*

- i) ☒ commence l'examen préliminaire international sur la base de la demande internationale telle qu'elle a été déposée initialement.
- ii) ☐ tient compte des modifications, apportées en vertu de l'article 34,
- ☐ à la description (modifications ci-jointes)
- ☐ aux revendications (modifications ci-jointes)
- ☐ aux dessins (modifications ci-jointes)
- iii) ☐ tient compte des modifications des revendications déposées auprès du Bureau international en vertu de l'article 19 (copie ci-jointe).
- iv) ☐ ne tient pas compte des modifications apportées aux revendications en vertu de l'article 19 et les considère comme écartées.
- v) ☐ diffère le commencement de l'examen préliminaire international jusqu'à l'expiration d'un délai de 20 mois à compter de la date de priorité, à moins qu'elle ne reçoive une copie des modifications effectuées en vertu de l'article 19 ou une déclaration du déposant, aux termes de laquelle celui-ci ne souhaite pas effectuer de modifications en vertu de l'article 19 (règle 69.1.d)). (Ne pas cocher cette case lorsque le délai visé à l'article 19 a expiré.)

- \* Lorsque aucune case n'est cochée, l'examen préliminaire international commencera sur la base de la demande internationale telle qu'elle a été déposée initialement ou, si l'administration chargée de l'examen préliminaire international reçoit copie des modifications apportées aux revendications en vertu de l'article 19 ou des modifications apportées à la demande internationale en vertu de l'article 34 avant d'avoir commencé à rédiger une opinion écrite ou le rapport d'examen préliminaire international, sur la base de la demande internationale ainsi modifiée.

## Cadre n° V ELECTION D'ETATS

- ☒ Le déposant élit tous les Etats éligibles (c'est-à-dire tous les Etats qui ont été désignés et qui sont liés par le chapitre II du PCT) sauf .....
- .....
- .....
- (Si le déposant ne souhaite pas élire certains Etats éligibles, il doit indiquer ci-dessus le nom ou le code de pays de ces Etats.)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## Cadre n° VI BORDEREAU

Aux fins de l'examen préliminaire international, les pièces suivantes sont jointes à la demande d'examen préliminaire international :

- |   |          |
|---|----------|
| 1. modifications selon l'article 34                               |          |
| description :   | feuilles |
| revendications :  | feuilles |
| dessins :   | feuilles |
| 2. lettre d'accompagnement des modifications selon l'article 34 : | feuilles |
| 3. copie des modifications selon l'article 19 :                   | feuilles |
| 4. copie de la déclaration selon l'article 19 :                   | feuilles |
| 5. autres pièces (préciser) :                                     | feuilles |

Réservé à l'administration chargée de l'examen préliminaire international

reçu                      non reçu

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Le ou les éléments cochés ci-après sont aussi joints à la demande d'examen préliminaire international :

- |  |  |
|--|--|
| 1. <input type="checkbox"/> pouvoir distinct signé                   | 4. <input checked="" type="checkbox"/> feuille de calcul des taxes |
| 2. <input type="checkbox"/> copie du pouvoir général                 | 5. <input type="checkbox"/> autres éléments (préciser):            |
| 3. <input type="checkbox"/> explication de l'absence d'une signature |  |

## Cadre n° VII SIGNATURE DU DEPOSANT, DU MANDATAIRE OU DU REPRESENTANT COMMUN

A côté de chaque signature, indiquer le nom du signataire et, si cela n'apparaît pas clairement à la lecture de la demande d'examen préliminaire international, à quel titre l'intéressé signe.

VAN MALDEREN Michel

Réservé à l'administration chargée de l'examen préliminaire international

1. Date effective de réception de la DEMANDE  
D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL :

2. Date modifiée de réception de la demande d'examen  
préliminaire international, en cas de CORRECTIONS  
apportées en vertu de la règle 60.1.b) :

3. ☐ La demande d'examen préliminaire international a été reçue PLUS DE 19 mois après la date de priorité et les points 4 et 5 ne sont pas applicables. ☐ Le déposant a été informé en conséquence.

4. ☐ La demande d'examen préliminaire international a été reçue dans le délai de 19 mois à compter de la date de priorité, prorogé en vertu de la règle 80.5.

5. ☐ Bien que la demande d'examen préliminaire international ait été reçue plus de 19 mois après la date de priorité, le retard à l'arrivée est EXCUSE en vertu de la règle 82.

Réservé au Bureau international

Demande d'examen préliminaire international reçue de l'administration  
chargée de l'examen préliminaire international le :

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

Expéditeur : l'ADMINISTRATION CHARGÉE DE  
L'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

## PCT

Destinataire

VAN MALDEREN, Eric  
Office VAN MALDEREN  
Place Reine Fabiola 6/1  
B-1080 BRUXELLES  
BELGIQUE

**REÇU**

**- 7 - 2 - 1996**

**OFFICE VAN MALDEREN**

**NOTIFICATION DE LA RECEPTION DE LA  
DEMANDE D'EXAMEN PRELIMINAIRE  
INTERNATIONAL**

(règle 61.1.b), première phrase, et  
instruction administrative 601 du PCT)

Date d'expédition  
(jour/mois/année)

**06. 02. 96**

Référence du dossier du déposant ou du mandataire  
**P. CDFR. 02/WO**

**NOTIFICATION IMPORTANTE**

Demande internationale n°

**PCT/ BE 95/ 00068**

Date du dépôt international (jour/mois/année)

**14/07/1995**

Date de Priorité (jour/mois/année)

**14/07/1994**

Déposant

**CROIX-ROUGE DE BELGIQUE et al.**

1. Il est notifié au déposant que l'administration chargée de l'examen préliminaire international considère la date suivante comme étant la date de réception de la demande d'examen préliminaire international de la demande internationale:

30/01/1996

2. Cette date de réception est

- ☐ la date effective de réception de la demande d'examen préliminaire international.
- ☐ la date à laquelle ont été reçues, dans les délais, les corrections à apporter à la demande d'examen préliminaire international.

3. ☐ Cette date tombe **APRES** l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité.

**Attention:** La ou les élections faites dans la demande d'examen préliminaire international n'ont pas pour effet de différer l'ouverture de la phase nationale jusqu'à l'expiration de 30 mois à compter de la date de priorité (ou plus tard pour ce qui concerne certains offices) (article 39.1)). Les actes à accomplir pour aborder la phase nationale doivent donc l'être dans le délai de 20 mois à compter de la date de priorité (ou plus tard pour ce qui concerne certains offices) (article 22).

Pour plus de précisions, voir l'annexe B du formulaire PCT/IB/301 envoyé au déposant par le Bureau international et le volume II du Guide du déposant du PCT.

- ☐ La présente notification confirme les renseignements donnés lors d'une entrevue ou par téléphone le:

4. Dans le cas visé au paragraphe 3, une copie de la présente notification a été envoyée au Bureau international.

Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen  
préliminaire international



Office Européen des Brevets  
D-80298 Munich  
Tel. (+49-89) 2399-0, Tx: 523656 epmu d  
Fax: (+49-89) 2399-4465

Fonctionnaire autorisé

**Angel Rolls**

N° de Téléphone **25 14**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---



# PCT

## RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)



23 Pages 14 JAN 1997

Référence du dossier du déposant ou du mandataire P. CDFR. 02/WO	POUR SUITE A DONNER Voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/ BE 95/ 00068	Date du dépôt international (jour/mois/année) 14/07/1995	Date de priorité (jour/mois/année) 14/07/1994
Classification internationale des brevets (CIB) ou classification nationale et CIB C07K14/755		
Déposant CROIX-ROUGE DE BELGIQUE et al.		

- Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
- Ce RAPPORT comprend 7 feuilles, y comprise la présente feuille de couverture.  
☐ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent \_\_\_\_\_ feuilles.

- Le présent rapport contient des indications et les pages correspondantes relatives aux points suivants:
  - I ☒ Base du rapport
  - II ☐ Priorité
  - III ☒ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
  - IV ☐ Absence d'unité de l'invention
  - V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
  - VI ☐ Certains documents cités
  - VII ☐ Irrégularités dans la demande internationale
  - VIII ☒ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire international 30/01/1996	Date d'achèvement du présent rapport 24 SEP 1996
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international  Office Européen des Brevets D-80298 Munich Tel. (+49-89) 2399-0, Tx: 523656 epmu d Fax: (+49-89) 2399-4465	Fonctionnaire autorisé A. Ury  N° de Téléphone 8411

THIS PAGE BLANK (USPTO)

## RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

## I. Base du rapport

1. Le présent rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (Les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées dans le présent rapport comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.):

☒ de la demande internationale telle qu'initialement déposée.

☐ de la description, pages \_\_\_\_\_, telles qu'initialement déposées,  
 pages \_\_\_\_\_, déposées avec la demande d'examen  
 préliminaire international,  
 pages \_\_\_\_\_, déposées sous couvert d'une lettre  
 du \_\_\_\_\_,  
 pages \_\_\_\_\_, déposées sous couvert d'une lettre  
 du \_\_\_\_\_,

☐ des revendications, nos. \_\_\_\_\_, telles qu'initialement déposées,  
 nos. \_\_\_\_\_, telles que modifiées en vertu de  
 l'article 19,  
 nos. \_\_\_\_\_, déposées avec la demande d'examen  
 préliminaire international,  
 nos. \_\_\_\_\_, déposées sous couvert d'une lettre  
 du \_\_\_\_\_,  
 nos. \_\_\_\_\_, déposées sous couvert d'une lettre  
 du \_\_\_\_\_,

☐ des dessins, feuilles/fig \_\_\_\_\_, telles qu'initialement déposées,  
 feuilles/fig \_\_\_\_\_, déposées avec la demande d'examen  
 préliminaire international,  
 feuilles/fig \_\_\_\_\_, déposées sous couvert d'une lettre  
 du \_\_\_\_\_,  
 feuilles/fig \_\_\_\_\_, déposées sous couvert d'une lettre  
 du \_\_\_\_\_,

## 2. Les modifications ont entraîné l'annulation

☐ de la description, pages \_\_\_\_\_.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

---

☐ des revendications, nos. \_\_\_\_\_.

☐ des dessins, feuilles/fig. \_\_\_\_\_.

3. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé (règle 70.2.c)).

4. Observations complémentaires, le cas échéant:

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

---

III. Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle

---

La question de savoir si l'objet de l'invention revendiquée semble être nouveau, impliquer une activité inventive (ne pas être évident) ou être susceptible d'application industrielle n'a pas été et ne sera pas examinée pour ce qui concerne:

☐ l'ensemble de la demande internationale,

☒ les revendications nos. 6-16 et (partiellement 17-30) \_\_\_\_\_

parce que:

☐ la demande internationale ou les revendications nos. \_\_\_\_\_ en question se rapportent à l'objet suivant, à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue d'effectuer un examen préliminaire international (préciser):

☐ la description, les revendications ou les dessins (en indiquer les éléments ci-dessous) ou les revendications nos. \_\_\_\_\_ en question ne sont pas clairs, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable (préciser):

☐ les revendications, ou les revendications nos. \_\_\_\_\_ en question, ne se fondent pas de façon adéquate sur la description, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable.

☒ il n'a pas été établi de rapport de recherche internationale pour les revendications nos. 6-16 et (partiellement 17-30) \_\_\_\_\_ en question.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



V. Déclaration motivée selon l'article 35.2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. DECLARATION

Nouveauté	Revendications 2, 17, 21, 23-27, 30_____	OUI
	Revendications 1, 3-5, 18-20, 22, 28, 29_____	NON
Activité inventive	Revendications _____	OUI
	Revendications 1-5, 17-30_____	NON
Possibilité d'application industrielle	Revendications 1-5, 17-27, 30_____	OUI
	Revendications _____	NON

2. CITATIONS ET EXPLICATIONS

Les documents (D) suivants ont été pris en compte pour l'établissement du rapport d'examen préliminaire:

D1: Nature, 312, 1984, p.337.

D2: Biochemistry, 25, 1986, p.8343.

D3: Protein Engineering, 2(4), 1988, p.301.

D4: EP 202 853.

- I) Le document D1 (voir Fig.3) détruit la nouveauté (Article 33.2 PCT) de la revendication 1 et des revendications 3-5 (lorsqu'elles dépendent de la revendication 1).  
D2 et D3 (voir Materials and Methods) détruisent la nouveauté des revendications 18 et 19 dans la mesure où ils divulgent des anticorps anti facteur VIII.  
D4 (revendications 1-7) détruit la nouveauté des revendications 20, 22, 28 et 29.
- II) L'objet de la revendication 2 est interprété comme consistant en une séquence polypeptidique comprenant

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

certaines parties du facteur VIII. Une telle séquence (à savoir un mutant de délétion arbitraire du facteur VIII n'ayant d'autre caractéristique que son antigénicité) peut être considérée comme inventive seulement si elle produit des effets inattendus ou présente des propriétés inattendues par rapport à celles déjà décrites dans l'état de la technique. Comme aucun effet ni aucune propriété de ce genre n'est indiqué dans la demande, cette revendication n'est pas acceptable (Article 33.3 PCT).

- III) Au vu des documents cités dans le rapport de recherche et des connaissances de base de l'homme du métier dans le domaine relatif à la présente demande, les revendications 3-5 et 17-30 ne contiennent aucune caractéristique supplémentaire qui, en combinaison avec l'objet de l'une quelconque des revendications auxquelles elles se réfèrent, impliquerait une activité inventive (Article 33.3 PCT).
- IV) Il n'existe pas de critère unique dans le PCT pour déterminer si les revendications 28 et 29 sont susceptibles d'application industrielle. La brevetabilité peut aussi dépendre de la manière dont les revendications ont été formulées. Ainsi, l'Office Européen des brevets ne considère pas comme susceptible d'application industrielle l'objet de revendications d'utilisation d'un composé à des fins médicales. Par contre, seront acceptées des revendications relatives à un composé connu, pour une première utilisation à des fins médicales ainsi que des revendications relatives à l'utilisation d'un tel composé dans la fabrication d'un médicament en vue d'un nouveau traitement médical.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

---

**VIII. Observations relatives à la demande internationale**

---

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description:

La séquence selon la revendication 2 n'est pas identifiable dans la mesure où aucune référence au facteur VIII (ou à une autre protéine) n'est présente dans son intitulé (Article 6 PCT).

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

PCT

Réserve à l'office récepteur

Demande internationale n° PCT/BE 95/00063

REQUETE 14 JAN 1997

14 JUL 1995 14-07-1995

Date du dépôt international

Le soussigné requiert que la présente demande internationale soit traitée conformément au Traité de coopération en matière de brevets.

PCT DEMANDE INTERNATIONALE PCT

Nom de l'office récepteur et "Demande internationale PCT"

Référence du dossier du déposant ou du mandataire (facultatif)  
(12 caractères au maximum) P.C.D.F.R. 027/WO

## Cadre n° I TITRE DE L'INVENTION

SEQUENCE POLYPEPTIQUE ANTIGENIQUE DU FACTEUR VIII FRAGMENTS ET/OU  
EPITOPES DE CELLE-CI

## Cadre n° II DEPOSANT

Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays.)

CROIX-ROUGE DE BELGIQUE  
Département Central de Fractionnement  
rue Joseph Stallaert 5  
B-1060 BRUXELLES  
BELGIQUE

☐ Cette personne est aussi inventeur.

n° de téléphone

n° de télécopieur

n° de télécopieur

Nationalité (nom de l'Etat) :

BELGIQUE

Domicile (nom de l'Etat) :

BELGIQUE

Cette personne est  
déposant pour :☐ tous les Etats  
désignés☒ tous les Etats désignés sauf  
les Etats-Unis d'Amérique☐ les Etats-Unis d'Amérique  
seulement☐ les Etats indiqués dans  
le cadre supplémentaire

## Cadre n° III AUTRE(S) DEPOSANT(S) OU (AUTRE(S)) INVENTEUR(S)

Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays.)

LAUB Ruth  
Avenue Besme 6  
B-1190 BRUXELLES  
BELGIQUE

Cette personne est :

☐ déposant seulement☒ déposant et inventeur☐ inventeur seulement  
(Si cette case est cochée,  
ne pas remplir la suite.)

Nationalité (nom de l'Etat) :

BELGIQUE

Domicile (nom de l'Etat) :

BELGIQUE

Cette personne est  
déposant pour :☐ tous les Etats  
désignés☐ tous les Etats désignés sauf  
les Etats-Unis d'Amérique☒ les Etats-Unis d'Amérique  
seulement☐ les Etats indiqués dans  
le cadre supplémentaire☒ D'autres déposants ou inventeurs sont indiqués sur une feuille annexe.

## Cadre n° IV MANDATAIRE OU REPRESENTANT COMMUN; OU ADRESSE POUR LA CORRESPONDANCE

La personne dont l'identité est donnée ci-dessous est/ a été désignée pour agir au nom  
du ou des déposants auprès des autorités internationales compétentes, comme :☒ mandataire☐ représentant commun

Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays.)

VAN MALDEREN Eric

OFFICE VAN MALDEREN  
Place Reine Fabiola 6/1  
B-1080 BRUXELLES (BELGIQUE)

n° de téléphone

02/426 38 10

n° de télécopieur

02/426 37 60

n° de télécopieur

63628 PATBEL B

☐ Cocher cette case lorsque aucun mandataire ni représentant commun n'est/ n'a été désigné et que l'espace ci-dessus est utilisé pour indiquer une adresse spéciale à laquelle la correspondance doit être envoyée.

THIS PAGE BLANK (USPTO)



## Suite du cadre n° III AUTRES DEPOSANTS OU (AUTRES) INVENTEURS

*Si aucun des sous-cadres suivants ne sont utilisés, la présente feuille ne doit pas être incluse dans la requête.*

Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays.)

DI GIAMBATTISTA Mario  
Rue Plouchart, 24  
B-7090 BRAINE-LE-COMTE  
BELGIQUE

Cette personne est :

- ☐ déposant seulement  
☒ déposant et inventeur  
☐ inventeur seulement  
(Si cette case est cochée, ne pas remplir la suite.)

Nationalité (nom de l'Etat) :  
BELGIQUE

Domicile (nom de l'Etat) :  
BELGIQUE

Cette personne est déposant pour :

- ☐ tous les Etats désignés ☐ tous les Etats désignés sauf les Etats-Unis d'Amérique ☒ les Etats-Unis d'Amérique seulement ☐ les Etats indiqués dans le cadre supplémentaire

Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays.)

Cette personne est :

- ☐ déposant seulement  
☐ déposant et inventeur  
☐ inventeur seulement  
(Si cette case est cochée, ne pas remplir la suite.)

Nationalité (nom de l'Etat) :

Domicile (nom de l'Etat) :

Cette personne est déposant pour :

- ☐ tous les Etats désignés ☐ tous les Etats désignés sauf les Etats-Unis d'Amérique ☐ les Etats-Unis d'Amérique seulement ☐ les Etats indiqués dans le cadre supplémentaire

Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays.)

Cette personne est :

- ☐ déposant seulement  
☐ déposant et inventeur  
☐ inventeur seulement  
(Si cette case est cochée, ne pas remplir la suite.)

Nationalité (nom de l'Etat) :

Domicile (nom de l'Etat) :

Cette personne est déposant pour :

- ☐ tous les Etats désignés ☐ tous les Etats désignés sauf les Etats-Unis d'Amérique ☐ les Etats-Unis d'Amérique seulement ☐ les Etats indiqués dans le cadre supplémentaire

Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays.)

Cette personne est :

- ☐ déposant seulement  
☐ déposant et inventeur  
☐ inventeur seulement  
(Si cette case est cochée, ne pas remplir la suite.)

Nationalité (nom de l'Etat) :

Domicile (nom de l'Etat) :

Cette personne est déposant pour :

- ☐ tous les Etats désignés ☐ tous les Etats désignés sauf les Etats-Unis d'Amérique ☐ les Etats-Unis d'Amérique seulement ☐ les Etats indiqués dans le cadre supplémentaire

☐ D'autres déposants ou inventeurs sont indiqués sur une autre feuille annexe.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## Cadre n° V DESIGNATION D'ETATS

Les désignations suivantes sont faites conformément à la règle 4.9.a) (cocher les cases appropriées; une au moins doit l'être) :

## Brevet régional

- ☐ AP Brevet ARIPO : KE Kenya, MW Malawi, SD Soudan et tout autre Etat qui est un Etat contractant du Protocole de Harare et du PCT
- ☒ EP Brevet européen : AT Autriche, BE Belgique, CH et LI Suisse et Liechtenstein, DE Allemagne, DK Danemark, ES Espagne, FR France, GB Royaume-Uni, GR Grèce, IE Irlande, IT Italie, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Pays-Bas, PT Portugal, SE Suède et tout autre Etat qui est un Etat contractant de la Convention sur le brevet européen et du PCT
- ☐ OA Brevet OAPI : BF Burkina Faso, BJ Bénin, CF République centrafricaine, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroun, GA Gabon, GN Guinée, ML Mali, MR Mauritanie, NE Niger, SN Sénégal, TD Tchad, TG Togo et tout autre Etat qui est un Etat membre de l'OAPI et un Etat contractant du PCT (si une autre forme de protection ou de traitement est souhaitée, le préciser sur la ligne pointillée) .....

## Brevet national (si une autre forme de protection ou de traitement est souhaitée, le préciser sur la ligne pointillée) :

- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> AM Arménie .....                                    | <input type="checkbox"/> MG Madagascar .....                       |
| <input type="checkbox"/> AT Autriche .....                                   | <input type="checkbox"/> MN Mongolie .....                         |
| <input type="checkbox"/> AU Australie .....                                  | <input type="checkbox"/> MW Malawi .....                           |
| <input type="checkbox"/> BB Barbade .....                                    | <input type="checkbox"/> NL Pays-Bas .....                         |
| <input type="checkbox"/> BG Bulgarie .....                                   | <input type="checkbox"/> NO Norvège .....                          |
| <input type="checkbox"/> BR Brésil .....                                     | <input type="checkbox"/> NZ Nouvelle-Zélande .....                 |
| <input type="checkbox"/> BY Bélarus .....                                    | <input type="checkbox"/> PL Pologne .....                          |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA Canada .....                          | <input type="checkbox"/> PT Portugal .....                         |
| <input type="checkbox"/> CH et LI Suisse et Liechtenstein .....              | <input type="checkbox"/> RO Roumanie .....                         |
| <input type="checkbox"/> CN Chine .....                                      | <input type="checkbox"/> RU Fédération de Russie .....             |
| <input type="checkbox"/> CZ République tchèque .....                         | <input type="checkbox"/> SD Soudan .....                           |
| <input type="checkbox"/> DE Allemagne .....                                  | <input type="checkbox"/> SE Suède .....                            |
| <input type="checkbox"/> DK Danemark .....                                   | <input type="checkbox"/> SI Slovénie .....                         |
| <input type="checkbox"/> ES Espagne .....                                    | <input type="checkbox"/> SK Slovaquie .....                        |
| <input type="checkbox"/> FI Finland .....                                    | <input type="checkbox"/> TJ Tadjikistan .....                      |
| <input type="checkbox"/> GB Royaume-Uni .....                                | <input type="checkbox"/> TT Trinité-et-Tobago .....                |
| <input type="checkbox"/> GE Géorgie .....                                    | <input type="checkbox"/> UA Ukraine .....                          |
| <input type="checkbox"/> HU Hongrie .....                                    | <input checked="" type="checkbox"/> US Etats-Unis d'Amérique ..... |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japon .....                           | .....  |
| <input type="checkbox"/> KE Kenya .....                                      | <input type="checkbox"/> UZ Ouzbékistan .....                      |
| <input type="checkbox"/> KG Kirghizistan .....                               | <input type="checkbox"/> VN Viet Nam .....                         |
| <input type="checkbox"/> KP République populaire démocratique de Corée ..... |  |
| <input type="checkbox"/> KR République de Corée .....                        |  |
| <input type="checkbox"/> KZ Kazakhstan .....                                 |  |
| <input type="checkbox"/> LK Sri Lanka .....                                  |  |
| <input type="checkbox"/> LT Lituanie .....                                   |  |
| <input type="checkbox"/> LU Luxembourg .....                                 |  |
| <input type="checkbox"/> LV Lettonie .....                                   |  |
| <input type="checkbox"/> MD République de Moldova .....                      |  |

Cases réservées pour la désignation (aux fins d'un brevet national) d'Etats qui sont devenus parties au PCT après la publication de la présente feuille :

- ☐ .....
- ☐ .....
- ☐ .....
- ☐ .....
- ☐ .....
- ☐ .....

Outre les désignations faites ci-dessus, le déposant fait aussi conformément à la règle 4.9.b) toutes les désignations qui seraient autorisées en vertu du PCT, sauf la désignation de .....

Le déposant déclare que ces désignations additionnelles sont faites sous réserve de confirmation et que toute désignation qui n'est pas confirmée avant l'expiration d'un délai de 15 mois à compter de la date de priorité doit être considérée comme retirée par le déposant à l'expiration de ce délai. (Pour confirmer une désignation, il faut déposer une déclaration contenant la désignation en question et payer les taxes de désignation et de confirmation. La confirmation doit parvenir à l'office récepteur dans le délai de 15 mois.)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Cadre supplémentaire** Si le cadre supplémentaire n'est pas utilisé, il n'est pas nécessaire d'insérer cette feuille dans la requête.

Utiliser le présent cadre dans les cas suivants :

1. Si l'un des cadres du présent formulaire ne suffit pas à contenir tous les renseignements :

dans ce cas, indiquer "Suite du cadre n° ..." [préciser le numéro du cadre] et fournir les renseignements conformément aux instructions données dans le cadre dans lequel la place était insuffisante;

en particulier :

- i) si plus de deux personnes sont en cause comme déposants ou inventeurs et que l'on ne dispose d'aucune "feuille annexe" :
- ii) si, dans le cadre n° II ou dans l'un des sous-cadres du cadre n° III, la case "les Etats indiqués dans le cadre supplémentaire" est cochée :
- iii) si, dans le cadre n° II ou dans l'un des sous-cadres du cadre n° III, l'inventeur ou le déposant/inventeur n'a pas la qualité d'inventeur pour tous les Etats désignés ou pour les Etats-Unis d'Amérique :
- iv) si, en plus du ou des mandataires indiqués dans le cadre n° IV, il y a d'autres mandataires :
- v) si, dans le cadre n° V, le nom d'un Etat (ou de l'OAPI) est assorti de la mention "brevet d'addition" ou "certificat d'addition" ou si, dans le cadre n° V le nom des Etats-Unis d'Amérique est assorti de la mention "Continuation" ou "Continuation-in-part" :
- (vi) si la priorité de plus de trois demandes antérieures est revendiquée :

dans ce cas, indiquer "Suite du cadre n° III" et fournir pour chaque personne supplémentaire le même type de renseignements que ceux qui sont demandés dans le cadre n° III;

dans ce cas, indiquer "Suite du cadre n° II" ou "Suite du cadre n° III" ou "Suite des cadres n° II et III" (selon le cas), ainsi que le nom du ou des déposants en cause et, à côté de chaque nom, le ou les Etats pour lesquels la personne mentionnée a la qualité de déposant (ou, le cas échéant, la mention "brevet ARIPO", "brevet européen" ou "brevet OAPI") ;

dans ce cas, indiquer "Suite du cadre n° II" ou "Suite du cadre n° III" ou "Suite des cadres n° II et III" (selon le cas), ainsi que le nom du ou des inventeur(s) et, à côté de chaque nom, le ou les Etats pour lesquels la personne mentionnée a la qualité d'inventeur (ou, le cas échéant, la mention "brevet ARIPO", "brevet européen" ou "brevet OAPI") ;

dans ce cas, indiquer "Suite du cadre n° IV" et fournir pour chaque mandataire supplémentaire le même type de renseignements que ceux qui sont demandés dans le cadre n° IV;

dans ce cas, indiquer "Suite du cadre n° V" ainsi que le nom de chaque Etat en cause (ou de l'OAPI) en précisant après chaque nom le numéro du titre principal ou de la demande principale ainsi que la date de délivrance du titre principal ou la date de dépôt de la demande principale;

dans ce cas, indiquer "Suite du cadre n° VI" et fournir pour chaque demande antérieure supplémentaire le même type de renseignements que ceux qui sont demandés dans le cadre n° VI.

2. Si le déposant revendique, à l'égard d'un office désigné, le bénéfice de dispositions de la législation nationale concernant des divulgations non opposables ou des exceptions au défaut de nouveauté :

dans ce cas, indiquer "Déclaration concernant des divulgations non opposables ou des exceptions au défaut de nouveauté" et rédiger au dessous cette déclaration.

#### IV : AUTRES AGENTS

VAN MALDEREN Michel  
VAN MALDEREN Joëlle

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<b>Cadre n° VI REVENDECTION DE PRIORITE</b>		D'autres revendications de priorité sont indiquées dans le cadre supplémentaire <input type="checkbox"/>	
La priorité de la ou des demandes antérieures suivantes est revendiquée :			
Pays <i>(dans lequel ou pour lequel la demande a été déposée)</i>	Date de dépôt <i>(jour/mois/année)</i>	Demande n°	Office de dépôt <i>(seulement s'il s'agit d'une demande régionale ou internationale)</i>
(1) BELGIQUE	14 juillet 1995 14.07.1995	09400666	
(2)			
(3)			
<p><i>Cocher la case ci-dessous si la copie certifiée conforme de la demande antérieure doit être délivrée par l'office qui, aux fins de la présente demande internationale, est l'office récepteur (une taxe peut être exigée) :</i></p> <p><input checked="" type="checkbox"/> L'office récepteur est prié de préparer, et de transmettre au Bureau international, une copie certifiée conforme de la ou des demandes antérieures indiquées ci-dessus au(x) point(s) : (1)</p>			
<b>Cadre n° VII ADMINISTRATION CHARGÉE DE LA RECHERCHE INTERNATIONALE</b>			
<p><b>Choix de l'administration chargée de la recherche internationale (ISA)</b>  <i>(Si plusieurs administrations chargées de la recherche internationale sont compétentes pour procéder à la recherche internationale, indiquer l'administration choisie: le code à deux lettres peut être utilisé) : ISA /</i></p> <p><b>Recherche antérieure</b> Remplir si une recherche (internationale, de type international ou autre) a déjà été effectuée par l'administration chargée de la recherche internationale ou demandée à cette administration et si cette administration est maintenant priée de fonder la recherche internationale, dans la mesure du possible, sur les résultats de cette recherche antérieure. Pour permettre d'identifier cette recherche ou cette demande de recherche, donner les renseignements demandés ci-après pour la demande de brevet pertinente (ou sa traduction) ou pour la demande de recherche :</p> <p>Pays (ou office régional) : BELGIQUE      Date (jour/mois/année) : 16 mars 1995      Numéro : B0 5173  BE 9400666</p>			
<b>Cadre n° VIII BORDEREAU</b>			
<p>La présente demande internationale comprend le nombre de feuilles suivant :</p> <p>1. requête : 5 feuilles  2. description : 29 feuilles  3. revendications : 8 feuilles  4. abrégé : 1 feuille  5. dessins : 6 feuilles  <b>Total : 49 feuilles</b></p>		<p>Le ou les éléments cochés ci-après sont joints à la présente demande internationale :</p> <p>1. <input type="checkbox"/> pouvoir distinct signé      5. <input checked="" type="checkbox"/> feuille de calcul des taxes  2. <input type="checkbox"/> copie du pouvoir général      6. <input type="checkbox"/> indications séparées concernant des micro-organismes déposés  3. <input type="checkbox"/> explication de l'absence d'une signature      7. <input type="checkbox"/> listage de séquence de nucléotides ou d'acides aminés (disquette)  4. <input type="checkbox"/> document(s) de priorité (indiqué(s) dans le cadre n° VI au(x) point(s)) :      8. <input checked="" type="checkbox"/> autres éléments rapport de recherche B0 5173 (préciser) :</p>	
La figure n° 5 des dessins (le cas échéant) est proposée pour publication avec l'abrégé.			
<b>Cadre n° IX SIGNATURE DU DEPOSANT OU DU MANDATAIRE</b>			
A côté de chaque signature, indiquer le nom du signataire et, si cela n'apparaît pas clairement à la lecture de la requête, à quel titre l'intéressé signe.			
VAN MALDEREN Eric			

Réservé à l'office récepteur	
1. Date effective de réception des pièces supposées constituer la demande internationale :	2. Dessins : <input type="checkbox"/> reçus : <input type="checkbox"/> non reçus :
3. Date effective de réception, recueillie en raison de la réception ultérieure, mais dans les délais, de documents ou de dessins complétant ce qui est supposé constituer la demande internationale :	
4. Date de réception, dans les délais, des corrections demandées selon l'article 11.2) du PCT :	
5. Administration chargée de la recherche internationale indiquée par le déposant : ISA /	6. <input type="checkbox"/> Transmission de la copie de recherche différée jusqu'au paiement de la taxe de recherche

Réservé au Bureau international	
Date de réception de l'exemplaire original par le Bureau international :	

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



5

10      SEQUENCE POLYPEPTIDIQUE ANTIGENIQUE DU FACTEUR VIII,  
         FRAGMENTS ET/OU EPITOPES DE CELLE-CI.

Objet de l'invention.

         La présente invention concerne la séquence  
15 polypeptidique antigénique du facteur VIII, des fragments, des  
épitopes de celle-ci et les parties fortes de ces épitopes,  
les inhibiteurs dirigés contre cette séquence, ses fragments,  
ses épitopes et/ou les parties fortes de ces épitopes, ainsi  
que les anti-inhibiteurs dirigés contre lesdits inhibiteurs.

20      La présente invention concerne également une  
composition pharmaceutique ainsi qu'un dispositif de diagnostic  
comprenant les molécules sus-mentionnées.

Arrière-plan technologique à la base de l'invention.

         Récemment, ont été mises en quantités suffisantes,  
25 à la disposition des hémophiles, des préparations de facteur  
VIII purifiées à partir de grands pools de plasma par  
chromatographie échangeuse d'ions, ou très récemment par  
immunoaffinité.

         Différentes préparations de FVIII obtenues par  
30 ingénierie génétique sont actuellement en développement ou en  
étude clinique. Ces FVIII sont soit des molécules entières,  
soit délétées (Bihoreau (1992)).

         Le FVIII est un cofacteur glycoprotéinique de la  
coagulation plasmatique et agit au niveau de l'activation du  
35 facteur X (FX). La caractérisation du FVIII et de son mécanisme  
d'action est rendue plus ardue par sa faible concentration dans

le plasma, l'hétérogénéité de taille, et son extrême sensibilité à la dégradation enzymatique. Cette réaction comprend la protéolyse du FX en facteur X activé (FXa = facteur Stuart) et fait intervenir un complexe (complexe Tenase) 5 comprenant l'enzyme (FIX activé ou FIXa), un cofacteur (le FVIII activé ou FVIIIa), des ions calcium et des phospholipides.

Le FVIII est une protéine si complexe que, bien que la séquence du gène soit connue depuis 1984 (Verhar et al., 10 Nature 312, pp. 317-342 (1984)), la structure complète du FVIII plasmatique n'est pas encore établie (près de 50% de la protéine a seulement été séquencée) ainsi que la structure précise des carbohydrates. La séquence de DNA a été admise 15 aux directives prescrites par la FDA pour les produits thérapeutiques issus de la biotechnologie).

Cependant, des différences subtiles entre le FVIII plasmatique et le FVIII recombinant ont été établies : glycosylation, demi-vie plasmatique après infusion, ... .

20 Le FVIII est essentiellement synthétisé dans les hépatocytes. Il a été cloné dans des cellules de mammifères, d'insectes et de levures (Webb et al., 1993). Ces glycoprotéines produites par des processus biotechnologiques peuvent présenter des différences dans la structure et la 25 composition des sucres par rapport à la protéine naturelle. Le cDNA du FVIII a aussi été exprimé dans des ovins transgéniques (Halter et al., 1993).

Le cDNA code pour un polypeptide de 2351 acides aminés y compris le peptide signal de 19 acides aminés clivé 30 dans le réticulum endoplasmique. Des modifications post-traductionnelles ont lieu dans l'appareil de Golgi: glycosylation des sérines et des thréonines et addition d'ions sulfates aux résidus tyrosine. Après maturation, la protéine est ensuite sécrétée dans le plasma, sous forme de 2 chaînes 35 210 kDa (1à 1648 résidus) et 80 kDa (de 1649 à 2332 résidus) unies par un ion divalent, et dont la plus légère est associée

de manière non covalente au Facteur von Willebrand (vWf) par son extrémité N-terminale (1 molécule vWf par molécule de FVIII). Dans le plasma, ce complexe est stabilisé par des liens hydrophobes et hydrophiles en présence de 50 fois plus de vWf. 5 Ce dernier inhiberait la fixation du FVIII aux phospholipides. Le fait que FVIII se lie aux plaquettes a été établi, toutefois la présence de récepteurs spécifiques exprimés à la surface des plaquettes n'a pas été clairement démontrée (Nesheim et al., 1993). Après sa fixation sur les phospholipides membranaires, 10 il démasquerait des sites de liaison de haute affinité pour le FIXa (Bardelle et al., 1993).

Le FVIII est formé de trois domaines structuraux A, B et C (Kaufman RJ, 1992; Bihoreau et al., 1992) organisés en A1:A2:B:A3:C1:C2 (figure 1). Les domaines A ont plus de 40% 15 d'homologie et sont aussi homologues à la céruloplasmine. Il existe également 30% d'homologie entre le domaine A du facteur V et du FVIII. Le domaine C intervient deux fois et serait capable de lier des glycoconjugués et des phospholipides à charge nette négative (Kemball-Cook and Barrowcliffe (1992); 20 Fay, PJ, 1993)). II présente une homologie avec des lectines capables de se lier aux phospholipides chargés négativement. C'est à ce niveau qu'a été localisé le site de fixation aux plaquettes (domaine C2) (Foster et al., (1990)). Le domaine B qui représente plus de 40% de la masse du FVIII, n'a aucune 25 activité spécifique connue mais pourrait jouer un rôle subtil dans la régulation de FVIII en le protégeant par exemple de l'action de la thrombine. Il n'a pas d'homologie connue avec d'autres protéines.

Il possède 19 sites de glycosylation sur les 25 30 identifiés pour le FVIII. La comparaison des séquences en acides aminés entre les FVIII humain et porcin, fait apparaître des différences majeures au niveau de cette région B. Néanmoins le FVIII porcin est utilisé efficacement pour traiter les hémophiles présentant des inhibiteurs. Ces observations ont 35 mené à la construction d'un gène FVIII délété dans la partie codante de cette région B et qui permet la production d'un

FVIII recombinant délété destiné au traitement de l'hémophilie.

Par immunopurification, différentes formes de FVIII actif ont été isolées qui ont en commun une chaîne légère de 80 kDa et dont la chaîne lourde peut avoir un poids moléculaire  
5 entre 210 et 90 kDa. Ces formes seraient issues de la dégradation progressive de l'extrémité C-terminale de la chaîne lourde. La liaison des deux chaînes est non covalente et résulte via une liaison d'un ion métallique divalent ( $Me^{++}$ ) entre les résidus responsables des domaines A1 et A3. Après  
10 formation du complexe activé (50-45 kDa) (chaîne lourde avec domaine A2 accessible) et 70 kDa (chaîne légère), une phase d'inactivation est observée suite probablement à un contact prolongé à la thrombine et une dissociation des fragments 50 kDa et 45 kDa. Le FVIIIa est aussi inactivé par la protéine C  
15 activée (APC) après protéolyse de la chaîne lourde. Cette inactivation est accélérée si le FVIIIa est fixé sur une surface phospholipique. Cette "down-regulation" de l'activité du FVIIIa dépendrait d'une phosphorylation par un enzyme plaquettaire (Kalafatis et al, (1990)).

20 La plupart des épitopes reconnus par les divers monoclonaux murins isolés à ce jour ne semblent pas être localisés dans les "sites fonctionnels" du FVIII. Quelques épitopes reconnus par des anticorps ayant un effet sur l'activité du FVIII (inhibition du test chromogénique et/ou  
25 clotting) ont été identifiés.

Ces déterminants antigéniques sont constitués des fragments 351 - 365 (domaine A1 - chaîne lourde), 713 - 740 (domaine A2), 1670 - 1684 (domaine A3 - chaîne légère) (NH2 terminal de la chaîne légère) ou encore 2303 - 2332 (domaine  
30 C2 - chaîne légère) (Foster C, (1990)), les fragments 701 - 750 (Ware et al. (1989)), 1673 - 1689 (Leyte et al. (1989)), 330 - 472, 1694- 1782 (EP-0 202 853), 322 - 740 et 2170 - 2322 (Scandella et al. (1992)).

Les anticorps reconnaissent ces divers sites,  
35 interfèrent respectivement avec l'activation du FVIII, la liaison du vWf ou la liaison des phospholipides.

D'autres anticorps, non inhibiteurs des tests classiques d'activité in vitro, peuvent agir sur l'action du FVIII avec les autres constituants de la cascade de coagulation en se fixant sur des sites de la molécule fort distants des sites actifs. Ceux-ci, ainsi modifiés, peuvent interférer avec le repliement naturel du FVIII, altérant certaines de ses propriétés ("modèle allostérique").

Ces expériences de "mapping" utilisent des peptides synthétisés par des fragments de gènes du FVIII clonés dans *E coli*, et ne permettant qu'une idée approximative de la localisation des déterminants antigéniques reconnus par ces monoclonaux. En effet, la taille des fragments identifiés s'échelonne entre 30 et 100 acides aminés.

Actuellement, pour identifier sans équivoque les sites antigéniques d'une protéine, il faut la cristalliser et l'analyser aux RX. Malheureusement, on ne dispose d'aucune donnée pour le FVIII dont le haut poids moléculaire est un handicap majeur pour la cristallisation.

Les régions antigéniques coïncident avec le caractère hydrophile de ces régions : plus la séquence oligopeptidique sera exposée au milieu extérieur (située à la surface), plus cette partie sera susceptible d'être reconnue dans une réaction d'immunisation. Par contre, les parties hydrophobes, situées généralement à l'intérieur de la protéine, sont considérées comme peu antigénique.

Actuellement, une notion qui prédomine chez les patients hémophiles, les cliniciens et les fractionneurs, est la disponibilité d'un FVIII purifié, dépourvu de tout contaminant plasmatique pathogène et d'effets secondaires.

Cependant, que ce soit après immunopurification à l'aide de monoclonaux murins, ou après obtention par recombinaison génétique dans des cellules de mammifères, le FVIII hautement purifié est extrêmement instable pour des raisons qui ne sont pas apparentes. Pour pouvoir le stabiliser, on ajoute des quantités importantes d'albumine humaine plasmatique au cours de la purification de sorte que l'activité

spécifique finale est de l'ordre de 2-3 U/mg protéine. Il en va de même pour le rFVIII coexprimé avec du facteur von Willebrand, stabilisateur naturel, dans des cellules CHO. Ces données semblent suggérer une influence des étapes de purification sur la molécule de FVIII, pouvant interférer avec son repliement naturel, introduire des changements conformationnels plus ou moins stables et dévoiler des épitopes potentiels nouveaux après infusion chez le patient.

Une des complications sérieuses présente chez 5 à 50% selon les auteurs (Ljung et al. (1992); Sultan et al., (1992); Lorenzo et al. (1992)) des hémophiles qui reçoivent des infusions thérapeutiques multiples de FVIII, est l'apparition d'anticorps (inhibiteurs) qui inactivent le FVIII et rend inefficace toute injection ultérieure de FVIII.

L'apparition spontanée d'auto-anticorps avec une activité anti-FVIII pathologique est rare chez les non-hémophiles (prévalence:  $10^{-5}$ ) et est signalée chez les individus âgés, manifestant des troubles immunologiques ou en post-partum (Kessler (1991), Hultin (1991)). Une étude multicentrique effectuée sur 3435 patients hémophiles, montre que tous les groupes d'âge sont concernés y compris les patients de moins de 5 ans. La majorité (82%) présentent une réponse très élevée ( $>10$  BU) (Sultan et al. (1992)). Ces anti-FVIII seraient composés essentiellement de IgG, de type IgG4 mais, des IgG2 (Gilles et al. (1993)b) IgA et des IgM ont été aussi décrits (Lottenburg et al. (1987)). Ils réagissent faiblement avec des molécules FVIII hétérologues purifiées d'autres mammifères (Bennett, B et al. (1972)). A l'heure actuelle, on ignore les causes qui induisent chez certains hémophiles l'apparition des inhibiteurs. S'il existe une association entre la sévérité de la délétion du gène et le développement d'une réponse immunitaire ne reconnaissant plus le FVIII comme une protéine du soi, cette association n'est démontrée que chez une minorité de patients. Aucune susceptibilité spécifique de l'hôte, liée à des marqueurs génétiques, n'a pu être mise en évidence comme par exemple une

association privilégiée avec certains déterminants du complexe MHC de classe II (Hoyer (1991)), sans doute, parce que tous les épitopes du FVIII, reconnus par les anticorps spécifiques n'ont pas encore été déterminés. Il semble aussi que les différentes méthodes de préparation du FVIII pourraient influencer sa structure, ses propriétés physico-chimiques ou son micro-environnement naturel (Vermeyleen, J and Peerlinck (1991); Gomperts, et al. (1992); Peerlinck et al. (1993)). Barrowcliffe et al. (1983) ont montré que les phospholipides protégeraient l'activité procoagulante de l'inactivation par des anticorps spécifiques humains. La présence d'anticorps naturels anti-FVIII chez 17% de donneurs sains (screening effectué sur 500 dons de plasma), sans manifestation pathologique, démontre l'importance de mieux connaître l'aspect structural tridimensionnel que revêt un FVIII physiologique (Ciavarella and Schiavoni (1992)).

La transfusion étudiée sur des cultures mixtes de lymphocytes, chez des modèles animaux et lors d'essais cliniques, a montré une modification de l'immunomodulation chez le transfusé, induisant une allo-immunisation et aussi une down-regulation de certaines fonctions immunitaires. Elle se manifeste sous forme de cellules suppressives, d'anticorps anti-idiotypes ou une diminution des cellules NK. Tout se passe comme si on induisait un certain degré de tolérance. Ces effets peuvent être renversés par l'infusion de l'interleukine-2 (IL-2) (Triulzi et al., 1990). In vitro, un effet inhibiteur de la sécrétion de IL-2 ainsi que la prolifération de mononucléaires de sang périphérique, sont obtenus en présence de cryoprécipité ou des préparations peu purifiées de FVIII (0,5 à 10 U/mg protéines) (Madhok et al., 1991; Wadhwa, M et al., 1992). Ces effets ne sont pas observés en présence de rFVIII ou de FVIII purifiés par immunoaffinité. Cette dernière préparation aurait un effet activateur sur les cellules T (Madhok et al., 1991). Toutefois, ces données ne sont pas directement extrapolables à une situation in vivo.

Il n'existe aucun modèle expérimental permettant de

poser un pronostic quant à l'immunogénécité ou l'effet immunomodulateur des préparations de FVIII ou la susceptibilité de l'hôte avant leur administration clinique. Ce modèle devient une nécessité absolue devant l'augmentation de la fréquence d'apparition d'anticorps anti-FVIII lors des essais cliniques actuels utilisant des préparations de FVIII de très haute activité spécifique obtenues soit par immunopurification soit par des techniques d'ingénierie du DNA (Seremetis et al. (1991)). De plus, Aledorf (1993) montre qu'en utilisant ces deux types de préparations chez des sujets vierges, non transfusés auparavant (PUPS), on observe une prévalence en inhibiteurs allant jusqu'à 27%.

#### Etat de la technique.

Les patients qui développent une réponse immune anti-FVIII se trouvent dans une situation grave qui nécessite l'utilisation de moyens lourds, agressifs et excessivement coûteux. Une des techniques les plus utilisées est de noyer l'organisme en injectant régulièrement de très hautes doses de FVIII (100 à 200 U/kg/jour) (Ewing et al. (1988)) en association avec un complexe Prothrombine concentré (FEIBA) (protocole de Bonn), ce qui réduit effectivement le taux d'inhibiteurs dans le sang (Sultan et al., 1986). De plus, ce type de traitement doit être poursuivi pendant un temps très long (Lian et al., 1989). Les essais menés en utilisant des doses moindres de FVIII ont rencontré un certain succès chez des patients dont le taux d'anticorps anti-FVIII est beaucoup plus faible (Gruppo, (1991)).

Une voie alternative est l'utilisation de FVIII d'espèce non humaine comme celle de porc, non neutralisé par les anti-FVIII du patient et permettant l'hémostase. Une étude multicentrique a montré les bénéfices d'un tel traitement mais a aussi mis en évidence des anticorps anti-FVIII porcin (Lozier (1993); Moreau et al. (1993); Hay and Bolton-Maggs (1991); Clyne et al. (1992)). Le facteur VIII activé, obtenu par DNA recombinant, a été aussi utilisé comme voie alternative de la coagulation chez des patients présentant des inhibiteurs



(Ingerslev et al. (1991)).

Récemment, une stratégie fructueuse (Nilsson et al. (1990)) pour réduire le taux d'inhibiteurs a consisté à soumettre les patients à une circulation extra-corporelle pour  
5 permettre l'absorption en phase solide des IgG totales sur Protéine A tout en les traitant avec des agents cytostatiques comme la cyclophosphamide.

L'infusion d'immunoglobulines intraveineuses polyvalentes (IVIG) combinées ou non avec un traitement  
10 immunosuppresseur s'est révélée relativement efficace, la raison de cette efficacité n'étant pas encore bien établie. Différentes hypothèses ont été avancées impliquant une inhibition feed-back de la synthèse des IgG, le stimulation de leur clearance, l'activation des T suppresseurs (Bloom (1992)).  
15 Une explication intéressante est que ces immunoglobulines intraveineuses commerciales contiendraient des anticorps capables de réagir avec des anticorps anti-FVIII au niveau de leur partie variable (idiotypes) et les neutraliser. Cette activité anti-idiotype serait spécifique à chaque donneur et  
20 pourrait être synergique dans un pool d'IgG (Dietrich et al. (1992)).

Malheureusement, aucune de ces approches ne s'est révélée satisfaisante en termes de sécurité, d'efficacité et de coût.

25 Buts de l'invention.

La présente invention vise à obtenir une séquence polypeptidique antigénique du facteur VIII, des fragments et des épitopes de celle-ci, destinés à améliorer le diagnostic et/ou la thérapie de désordres immunitaires, en particulier  
30 ceux induits par les inhibiteurs du FVIII, les inhibiteurs de la liaison du FVIII au facteur de von Willebrand (vWf) et/ou aux phospholipides membranaires (PL).

Un autre but de l'invention vise à obtenir des inhibiteurs présentant une immunoaffinité avec cette séquence  
35 polypeptidique antigénique, ses fragments et/ou ses épitopes, destinés également à améliorer le diagnostic et/ou la thérapie

de désordres immunitaires.

Un but complémentaire vise à obtenir des anti-inhibiteurs, en particulier des anticorps, dirigés contre lesdits inhibiteurs susmentionnés, destinés à améliorer le diagnostic et/ou la thérapie de désordres immunitaires.

Brève description des figures.

- La figure 1 représente de manière schématique la séquence polypeptidique du facteur VIII.
- La figure 2 représente le graphique d'hydrophilicité de la séquence A3 du facteur VIII renumérotée de 1 à 371 acides aminés (valeur de surface pour chaque acide aminé).
- La figure 3 représente le graphique de flexibilité de cette séquence A3 du facteur VIII.
- La figure 4 représente le graphique d'accessibilité de cette séquence A3 du facteur VIII.
- La figure 5 représente le graphique général reprenant la somme des valeurs définies dans les graphiques 2 à 4.
- La figure 6 représente la mise en évidence d'anticorps anti-facteur VIII dans les séra de souris par un test ELISA.

Éléments caractéristiques de l'invention.

La présente invention concerne la séquence polypeptidique antigénique du facteur VIII et/ou des fragments de celle-ci, tels que décrits par Verhar et al. (Nature, vol. 312, p 339 (1984)).

On entend par "séquence polypeptidique du facteur VIII" la séquence naturelle humaine ou animale, éventuellement glycosylée, obtenue par purification de pools de plasma, en particulier la fraction I de Cohn, par synthèse et/ou ingénierie génétique (c'est-à-dire également une séquence éventuellement délétée des portions n'intervenant pas dans le mécanisme de coagulation sanguine) du facteur VIII.

La présente invention concerne en particulier la séquence polypeptidique antigénique du facteur VIII dépourvue

des fragments Alanine 322 - Sérine 750, Leucine 1655 - Arginine 1689, Lysine 1694 - Proline 1782 et Acide Aspartique 2170 - Tyrosine 2332.

La présente invention concerne en particulier les  
5 séquences polypeptidiques antigéniques A1, A2, A3, et C (C1 et C2) du facteur VIII.

Dans la suite du texte, les acides aminés seront  
représentés par leur abréviation en trois lettres ou par le  
symbole d'une lettre unique telle qu'identifiée dans le tableau  
10 ci-dessous.

Alanine	Ala	A	Leucine	Leu	L
Arginine	Arg	R	Lysine	Lys	K
Asparagine	Asn	N	Méthionine	Met	M
Acide Aspartique	Asp	D	Phénylalanine	Phe	F
Cystéine	Cys	C	Proline	Pro	P
Glutamine	Gln	Q	Sérine	Ser	S
Acide Glutamique	Glu	E	Thréonine	Thr	T
Glycine	Gly	G	Tryptophane	Trp	W
Histidine	His	H	Tyrosine	Tyr	Y
Isoleucine	Ile	I	Valine	Val	V

Une première forme d'exécution de l'invention  
concerne la séquence polypeptidique antigénique A3 du facteur  
25 VIII, des fragments et/ou des épitopes de celle-ci. Ladite  
séquence est comprise entre l'Acide Glutamique 1649 et  
l'Asparagine 2019, de préférence comprise entre l'Arginine 1652  
et l'Arginine 1917 ou entre l'Arginine 1803 et l'Arginine 1917,  
de la séquence polypeptidique du facteur VIII telle que publiée  
30 par Verhar et al. (Nature, vol. 312, p 339 (1984)) et Toole et  
al. (Nature, vol. 312, pp. 342-347 (1984)).

Préférentiellement, les fragments de ladite séquence  
sont compris entre l'Arginine 1652 et l'Arginine 1696, de  
préférence entre l'Arginine 1652 et l'Arginine 1689, entre la  
35 Thréonine 1739 et l'Acide Aspartique 1831 ou entre l'Acide

Glutamique 1885 et l'Arginine 1917.

L'invention concerne également les épitopes de séquence de ces fragments, notamment:

- l'épitope compris entre l'Arginine 1652 et la Tyrosine 1664 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:1:

Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr

1 5 10

- 10 - l'épitope compris entre l'Acide Aspartique 1681 et l'Arginine 1696 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:2:

Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg

1 5 10 15

15

- l'épitope compris entre la Thréonine 1739 et la Tyrosine 1748 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:3:

Thr Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr

20 1 5 10

- l'épitope compris entre l'Asparagine 1777 et la Phenylalanine 1785 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:4:

Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe

25 1 5

- l'épitope compris entre l'Acide Glutamique 1794 et la Tyrosine 1815 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:5:

30 Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro

1 5 10 15

Asn Glu Thr Lys Thr Tyr

20

35

- l'épitope compris entre la Méthionine 1823 et l'Acide Aspartique 1831 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:6:

Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp

5     1                             5

- l'épitope compris entre l'Acide Glutamique 1885 et la Phenylalanine 1891 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:7:

10    Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe

1                             5

- l'épitope compris entre l'Acide Glutamique 1893 et l'Alanine 1901 défini par la séquence suivante :

15    SEQ ID NO:8:

Glu Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala

1                             5

- l'épitope compris entre l'Acide Aspartique 1909 et l'Arginine 1917 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:9:

Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg

1                             5

25            Avantageusement, ladite séquence, ses fragments particuliers et ses épitopes présentent une caractéristique antigénique illustrée par les figures 2 à 5 annexées.

Une autre forme d'exécution préférée de l'invention concerne la séquence polypeptidique antigénique A1 du facteur  
30    VIII, des fragments et/ou des épitopes de celle-ci.

Préférentiellement, les fragments de ladite séquence sont compris entre l'Alanine 108 et la Méthionine 355, de préférence entre l'Alanine 108 et la Glutamine 228.

L'invention concerne également les épitopes de  
35    séquence de ces fragments, notamment :

- l'épitope compris entre l'Alanine 108 et la Valine 128 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:10:

Ala Ser Glu Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys  
5      1                      5                      10                      15  
Glu Asp Asp Lys Val  
                    20

- l'épitope compris entre l'Acide Glutamique 181 et  
10 la Leucine 192 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:11:

Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu  
1 5 10

15 - l'épitope compris entre l'Acide Aspartique 203 et  
la Glutamine 218 défini par la séquence suivante :

SEO ID NO:12:

Asp Glu Gly Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln  
1 5 10 15

20 - l'épitope compris entre l'Acide Aspartique 327 et  
la Méthionine 355 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:13:

```

      Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu Glu
      1              5              10              15
25  Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met
      20              25

```

Une autre forme d'exécution préférée de l'invention concerne la séquence polypeptidique antigénique A2 du facteur VIII, des fragments et/ou des épitopes de celle-ci.

30                   Préférentiellement, les fragments de ladite séquence  
sont compris entre l'Acide Aspartique 403 et l'Acide Aspartique  
725, de préférence entre l'Histidine 693 et l'Acide Aspartique  
725.

L'invention concerne également les épitopes de la  
35 séquence de ces fragments, notamment :

15

- l'épitope compris entre l'Acide Aspartique 403 et la Lysine 425 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:14:

	Asp	Asp	Arg	Ser	Tyr	Lys	Ser	Gln	Tyr	Leu	Asn	Asn	Gly	Pro	Gln	Arg
5	1				5					10					15	
	Ile	Gly	Arg	Lys	Tyr	Lys	Lys									
																20

10 - l'épitope compris entre la Valine 517 et l'Arginine 527 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:15:

	Val	Glu	Asp	Gly	Pro	Thr	Lys	Ser	Asp	Pro	Arg
	1				5					10	

15 - l'épitope compris entre l'Histidine 693 et la Glycine 701 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:16:

	His	Asn	Ser	Asp	Phe	Arg	Asn	Arg	Gly
	1				5				

20

- l'épitope compris entre la Sérine 710 et l'Acide Aspartique 725 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:17:

	Ser	Cys	Asp	Lys	Asn	Thr	Gly	Asp	Tyr	Try	Gly	Asp	Ser	Tyr	Glu	Asp
25	1				5					10					15	

Une dernière forme d'exécution préférée de l'invention concerne la séquence polypeptidique antigénique C du facteur VIII, des fragments et/ou des épitopes de celle-ci.

30 De préférence, les fragments de ladite séquence sont compris entre la Lysine 2085 et la Lysine 2249, de préférence entre la Lysine 2085 et la Glycine 2121.

L'invention concerne également les épitopes de la séquence de ces fragments, notamment :

35

- l'épitope compris entre le Lysine 2085 et la Phénylalanine 2093 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:18:

Lys Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe

5     1                                 5

- l'épitope compris entre l'Acide Aspartique 2108 et la Glycine 2121 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:19:

10 Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly

1                                 5                                 10

- l'épitope compris entre la Glycine 2242 et la Lysine 2249 défini par la séquence suivante :

15 SEQ ID NO:20:

Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys

1                                 5

L'invention concerne également les parties fortes  
20 desdits épitopes ou desdits fragments, c'est-à-dire les portions de séquence desdits épitopes comprenant les acides aminés Tyrosine et Histidine, qui présentent de manière inattendue une affinité particulièrement élevée vis-à-vis des inhibiteurs du facteur VIII. De préférence, ces parties fortes  
25 comprennent ledit acide aminé Tyrosine ou Histidine lié à au moins deux autres acides aminés identiques ou différents.

Ces séquences, ces fragments et ces épitopes, en particulier les parties fortes des épitopes ou des fragment, sont caractérisés de manière particulièrement avantageuse par  
30 une hydrophilicité élevée telle que décrite par Parker, Guo et Hodges (Biochemistry 25, pp 5425-5432 (1986)), une importante flexibilité telle que décrite par Karplus et Schultz (Naturwissenschaften 72, p 212 (1985)) et une importante accessibilité telle que décrite par Janin (Nature 277, pp 491-  
35 492 (1979)) (voir figures 2 à 5).

Ces fragments et ces épitopes sont en particulier exposés à la surface de la protéine du facteur VIII et



présentent une caractéristique antigénique marquée.

Avantageusement, ladite séquence polypeptidique, ses fragments, ses épitopes et/ou ces parties fortes desdits fragments ou desdits épitopes sont également indépendamment  
5 immunogènes (c'est-à-dire qu'ils sont immunogènes même sans être complexés à une protéine de grande taille telle que la BSA, l'hémocyanine,...), et présentent de préférence une immunoaffinité avec des inhibiteurs du facteur VIII, tels que des anticorps anti-facteur VIII et/ou présentent une  
10 immunoaffinité pour les récepteurs des lymphocytes T et/ou B.

Cette séquence, ces fragments, ces épitopes et/ou les parties fortes desdits fragments ou desdits épitopes provoquent une réaction immunitaire (synthèse d'anticorps) lorsqu'ils sont injectés à un lapin.

15 Ces caractéristiques sont particulièrement importantes pour les épitopes SEQ ID NO:2 et SEQ ID NO:5 qui comprennent des séquences relativement "longues" en acides aminés, respectivement de 16 et 22 acides aminés.

Ces séquences sont donc caractérisées par une  
20 importante immunogénéicité vis-à-vis d'anticorps monoclonaux et polyclonaux.

Cependant, ces séquences sont suffisamment courtes pour être aisément obtenues par synthèse.

A titre d'exemple, les peptides Asp 1681 - Arg 1696  
25 et Asp 327 - Met 355 ont été synthétisés pour mettre en évidence des anticorps anti-facteur VIII dans les séra de souris par un test ELISA.

Les peptides libres (non couplés à une protéine vectrice) ont été injectés à deux souris BALB/C selon le schéma  
30 suivant :

- jour 0 100 µg de peptide émulsionné dans de l'adjuvant de Freund incomplet sont injectés par voie intramusculaire.

- jours 7, 14, 21 et 28 :

35 immunisation avec 50 µg de peptide.

Un échantillon de sang est prélevé chaque jour avant l'injection. Des plaques de microtitration en polystyrène (NUNC) sont saturées avec une préparation de facteur plasmatique diluée à l'aide de 40 UI/ml. 50 µl de dilutions croissantes (1/60, 1/300 et 1/600 à des antiséra de souris sont ajoutés aux puits. Après incubation et lavage, la présence d'anticorps anti-facteur VIII est mise en évidence par l'addition de 50 µl d'une dilution 1/5000 d'un anticorps de lapin anti-IgG de souris marquée à la biotine. Après incubation et lavage, les puits sont incubés avec 50 µl d'avidine-peroxydase (1/2500) et lavés, et finalement, 100 µl d'OPD sont ajoutés aux puits. La densité optique est mesurée à 490 nm. Les résultats des ELISA sont repris dans la figure 6 annexée (EXA, EX2 et un échantillon BLC qui sert de blanc).

La présente invention concerne également les épitopes conformationnels comprenant au moins deux fragments différents de ladite séquence, au moins deux épitopes de séquence et/ou au moins deux parties fortes desdits épitopes ou desdits fragments différents selon l'invention et identifiés ci-dessus.

Les épitopes conformationnels sont composés de deux ou plusieurs portions différentes d'une séquence polypeptidique situées à proximité les unes des autres lors du repliement de la protéine dans sa structure tertiaire ou quaternaire.

Ces épitopes sont susceptibles d'être "reconnus" (c'est-à-dire de présenter une immunoaffinité), de préférence simultanément, avec des inhibiteurs du facteur VIII, notamment des lymphocytes B (via le locus majeur d'histocompatibilité (MHC I et/ou II)) et/ou des anticorps anti-facteur VIII (Scandella et al., Blood 76, p 437 (1990)).

De préférence, ladite séquence, lesdits fragments, lesdits épitopes et/ou les parties fortes desdits épitopes ou desdits fragments sont complexés avec une protéine porteuse ou un peptide porteur, tels que la BSA ou l'hémocyanine, de manière à former un complexe présentant une plus forte immunogénéicité.

Un autre aspect de la présente invention concerne un inhibiteur du facteur VIII présentant une immunoaffinité avec la séquence polypeptidique antigénique selon la présente invention, avec des fragments, des épitopes de celle-ci, des parties fortes desdits épitopes ou desdits fragments et/ou le complexe selon l'invention.

On entend par inhibiteur, toute molécule biologique ou cellule intervenant avec et/ou contre le facteur VIII, et susceptible de créer des désordres immunitaires.

En particulier, un tel inhibiteur peut être un anticorps (gammaglobuline) monoclonal ou polyclonal ou un fragment d'anticorps anti-facteur VIII (tel que la portion hypervariable Fab dudit anticorps), qui inactive ledit facteur VIII et/ou qui inhibe la liaison du facteur VIII au facteur de von Willebrand et/ou aux phospholipides membranaires.

Avantageusement, lesdits inhibiteurs sont synthétisés par un animal "chimérique" comportant un système immunitaire humain tel qu'une souris SCID-hu produisant des anticorps humains.

Les souris SCID (severe combined immunodeficient) sont des souris présentant une déficience en lymphocytes B et T fonctionnels due à un dysfonctionnement de la recombinaison des gènes responsables des récepteurs antigéniques. Le système immunitaire des souris SCID peut être reconstitué avec des cellules immunocompétentes d'origine humaine provenant d'organes fœtaux ou de sang périphérique (Mosler et al. (1988).

Une fois reconstituées, ces souris SCID-hu produisent des anticorps humains soit spontanément, soit après immunisation.

Il semble qu'il n'existe pas de réactivité croisée dramatique entre les facteurs VIII humain et murin (Kessler, 1991).

Les lymphocytes du sang périphérique sont prélevés chez plusieurs types de donneurs : volontaires non hémophiles, hémophiles dépourvus d'inhibiteurs détectables par les méthodes classiques, hémophiles présentant un taux important

d'inhibiteurs ainsi que des donneurs produisant des auto-anticorps.

Ce modèle est utilisé dans deux types de travaux. D'abord, la reconstitution de souris est obtenue avec des  
5 cellules d'un seul donneur, et après vérification de la reproductibilité du système, on peut comparer l'antigénécité de plusieurs préparations du facteur VIII.

D'autre part, ce modèle permet d'obtenir et d'étudier une réponse anti-facteur VIII au niveau clonal.

10 L'étude de la réponse spécifique monoclonale des cellules B est très importante, car elle permet précisément d'identifier les épitopes séquentiels et conformationnels du facteur VIII. Les cellules B sont cultivées clonées en présence ou non d'anti-CD40, à partir de la rate des souris produisant  
15 des anti-facteur VIII, ou bien transformées en présence du virus EBV. Les anticorps anti-CD40 reconnaissent un antigène membranaire et activent les cellules B en présence d'une ligne de fibroblastes (Banchereau et al. (1991)). Il est dès lors possible d'envisager l'utilisation de ces épitopes  
20 immunodominants comme cible possible de l'immunothérapie.

La détermination de marqueurs MHC de classe I et de classe II portés par les clones de lymphocytes B permet d'analyser la réponse immunitaire des anti-facteur VIII au niveau génétique, et ainsi de suivre la reconnaissance par les  
25 cellules T spécifiques. Ceci est également une excellente méthode pour voir s'il existe un facteur de risque associé à cette pathologie.

Les souris BALB/C choisies pour la préparation des mAbs anti-facteur VIII sont préalablement injectées à trois  
30 reprises à 2 semaines d'intervalle avec une solution de facteur VIII recombinant (rFVIII). Ce type de préparation présente l'avantage de contenir un facteur VIII de haute pureté à une concentration élevée avec un minimum de protéines contaminantes. Quatre jours après la dernière injection, les  
35 splénocytes sont fusionnés avec des cellules d'un myélome de souris (SP207) (van Snick et Coulie (1982)). La sélection des

hybridomes produisant des anticorps anti-facteur VIII s'effectue par la technique ELISA utilisant des plaques de polystyrène sur lesquelles du rFVIII a préalablement été insolubilisé. Les surnageants d'hybridomes contenant des anticorps anti-facteur VIII sont clonés par la technique de dilution limite, puis cultivés in vitro.

Les anticorps sont purifiés par chromatographie au départ de ces surnageants.

La quantification, la détermination de la chaîne légère (k ou l) et la sous-classe (IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3) des mAbs anti-facteur VIII s'effectuent par la technique ELISA.

La détermination des épitopes reconnus sur la molécule de facteur VIII se réalise par la technique d'immunotransfert avec des solutions de facteur VIII natives ou après clivage enzymatique à la thrombine.

La capacité des mAbs anti-facteur VIII produits à inhiber la fonction est évaluée, pour chacun de ceux-ci, par une méthode de coagulation (méthode Bethesda) (Kasper et al. (1975)) ainsi que par une méthode chromogénique basée sur la capacité qu'a le facteur X activé par l'association du facteur VIII et du facteur IX activé, de transformer un substrat incolore en un substrat coloré (Svendsen et al. (1984)).

Les lignées cellulaires productrices d'anticorps monoclonaux humains anti-facteur VIII sont dérivées à partir des lymphocytes B humains prélevés dans la cavité abdominale de souris SCID immunisées avec différents lots de facteur VIII après reconstitution du système immunitaire des animaux avec des lymphocytes humains. Les lymphocytes B sont mis en culture en présence de cellules fibroblastiques exprimant un récepteur pour la portion Fc des immunoglobulines sur laquelle est fixé un anticorps monoclonal anti-CD40. Ces cellules activées par la polymérisation du récepteur CD40 sont alors infectées et immortalisées par le virus Epstein-Barr (Kozbor, (1981)). Les lignées cellulaires produisant les anticorps recherchés peuvent alors être sous-clonées.

Un autre aspect de l'invention concerne un anti-inhibiteur caractérisé en ce qu'il est dirigé contre ledit inhibiteur du facteur VIII précédemment décrit.

On entend par anti-inhibiteur dirigé contre  
5 l'inhibiteur du facteur VIII, toute molécule biologique et/ou cellule susceptible d'interférer avec ledit inhibiteur de manière à assurer son inactivation.

De préférence, un tel anti-inhibiteur est un anticorps (monoclonal ou polyclonal), ou un fragment  
10 d'anticorps anti-idiotypique anti-facteur VIII.

Avantageusement, ces anti-inhibiteurs dirigés contre les inhibiteurs du facteur VIII sont synthétisés par un animal "chimérique" présentant un système immunitaire humain tel qu'une souris SCID-hu.

15 Seules les souris qui produisent moins de 10 µg/ml d'immunoglobulines résiduelles sont utilisées pour les expériences.

Le modèle est mis au point en utilisant des globules blancs périphériques provenant de volontaires immunisés contre  
20 le tétanos.

La reconstitution est menée avec une seule injection i.p. de 15 à 20.10<sup>6</sup> mononucléaires d'origine humaine. Ces cellules sont obtenues après centrifugation en gradient Ficoll-Hypaque de sang périphérique (environ 200 ml). Douze à vingt  
25 souris peuvent être reconstituées à partir d'un seul donneur. La production d'immunoglobulines humaines est mesurée en fonction du temps.

Les anticorps anti-idiotypiques anti-facteur VIII sont purifiés à partir d'un pool de plasma de départ, qui est  
30 constitué à partir de dons volontaires d'au moins 7200 donneurs pour augmenter la probabilité de trouver des anticorps anti-idiotypiques, par immunoaffinité au moyen d'anticorps anti-facteur VIII humains fixés de manière covalente sur une colonne de Sepharose ou par une partie Fc sur une colonne de protéine  
35 G. Après fractionnement, par la méthode de Cohn-Oncley, deux fractions Fr II et Fr III riches en IgG sont obtenues. Elles

serviront de préparation de départ pour la purification des anticorps anti-idiotypiques. Ces anticorps monoclonaux seront obtenus à partir de cellules B prélevées chez les patients hémophiles. Ces cellules ont au préalable proliféré dans les  
5 souris SCID et ont été transformées en cultures cellulaires sécrétrices par le virus EBV. L'utilisation de ces anticorps monoclonaux humains permet d'éviter l'introduction de protéines non humaines dans les préparations thérapeutiques. Ces préparations sont évaluées pour leur efficacité de  
10 neutralisation des inhibiteurs provenant du plus grand nombre de patients hémophiles possible, par des analyses immunochimiques approfondies. Plusieurs étapes d'inactivation virale physique (traitement par rayonnement UVCF), thermique et/ou chimique (par exemple par solvant-détergent) sont  
15 introduites dans le procédé de purification afin d'assurer la plus grande sécurité virale possible.

L'idiotype propre aux anticorps humains est analysé en séquençant la partie variable de la molécule. Ces données sont d'importance extrême, car elles sont de grande utilité à  
20 la fois dans le diagnostic et la régulation de la production des anti-facteur VIII.

Jusqu'à présent, la source d'anticorps nécessaires à la confection de complexes antigènes-anticorps a été autologue, c'est-à-dire que le patient lui-même fournissait les  
25 anticorps. Nous savons depuis peu que des individus normaux avec des taux normaux de facteur VIII circulant, produisent des anticorps anti-facteur VIII dont l'activité dans le plasma est limitée par des anticorps anti-idiotypique correspondants. Des anticorps anti-facteur VIII préparés à partir d'un pool de  
30 gammaglobulines peuvent remplacer avantageusement la source autologue.

Il est également possible d'obtenir des cellules B humaines transformées avec le virus EBV qui produisent des inhibiteurs de patients hémophiles ou non hémophiles. Quatre  
35 lignées ont ainsi été obtenues, l'une d'elles reconnaissant la chaîne légère du facteur VIII. Des souris SCID ont été

repeuplées avec les cellules B sécrétrices d'inhibiteurs provenant de patients hémophiles ou non. La production est stimulée avec l'injection de facteur VIII plasmatique et de facteur VIII recombinant. Il est donc possible d'obtenir des  
5 cultures continues in vitro produisant lesdits inhibiteurs. Cette technique permet également d'obtenir une production continue d'anticorps anti-idiotypes anti-facteur VIII.

Un autre aspect de l'invention concerne une composition pharmaceutique comprenant un élément choisi parmi  
10 le groupe constitué par ladite séquence polypeptidique antigénique du facteur VIII, des fragments, des épitopes de celle-ci et/ou des parties fortes desdits épitopes ou desdits fragments, un inhibiteur du facteur VIII dirigé contre eux, un anti-inhibiteur dirigé contre ledit inhibiteur, et/ou un  
15 mélange d'entre eux.

Un autre aspect de l'invention concerne un dispositif de diagnostic et/ou de purification, tel qu'un kit de diagnostic ou une colonne de chromatographie (telle que décrite par Ezzedine et al. (1993)), comprenant un élément choisi parmi  
20 le groupe constitué par la séquence polypeptidique antigénique selon l'invention, des fragments, des épitopes de celle-ci et/ou les parties fortes desdits épitopes ou desdits fragments, le complexe selon l'invention, un inhibiteur dirigé contre eux, un anti-inhibiteur dirigé contre ledit inhibiteur, et/ou un  
25 mélange d'entre eux.

Le dispositif de purification peut donc consister en une colonne de chromatographie telle que décrite par Ezzedine et al. (1993), comprenant la séquence du facteur VIII, des fragments, des épitopes de celle-ci et/ou les parties fortes  
30 desdits fragments ou épitopes fixés à la phase solide de la colonne de chromatographie.

On fait ensuite passer sur cette colonne de chromatographie un liquide physiologique (tel que le sérum) d'un patient comprenant des inhibiteurs du facteur VIII, lesdits inhibiteurs (par exemple des anticorps) se fixant de  
35 manière spécifique sur ledit facteur VIII, lesdits fragments,



lesdits épitopes ou lesdites parties fortes.

Après élution, il est possible de recueillir lesdits inhibiteurs en les faisant réagir avec des anti-inhibiteurs (anticorps anti-idiotypiques anti-facteur VIII).

5 Il est possible aussi de caractériser les anticorps anti-idiotypiques anti-facteur VIII présents dans un sérum en faisant passer ces anti-inhibiteurs sur une colonne de chromatographie sur laquelle des inhibiteurs du facteur VIII ont été fixés à la phase solide.

10 Un dernier aspect de l'invention concerne l'utilisation de la composition pharmaceutique selon l'invention, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention et/ou au traitement des désordres immunitaires, en particulier ceux induits par les inhibiteurs du facteur VIII,  
15 les inhibiteurs de la liaison du facteur VIII de von Willebrand (vWF) et/ou les inhibiteurs de la liaison du facteur VIII aux phospholipides membranaires.

Références.

- Aledort, LM (1993), Sem Hematol 30, 7-9
- Bardelle, C, Furie, B, Furie, BC and Gilbert, GE (1993), J.Biol Chem 268, 8815-8824
- 5 - Barrowcliffe, TW (1993), Sem Thromb Hemost 19, 73-79
- Bennet, B, Ratnoff, OD (1972), Procédé Sol Exp Biol Med 143, 137-155
- Bihoreau, N (1992), M/S 8, 1043-1050
- Blomm, AL (1992), haemost 22, 268-275
- 10 - Blanchereau, J, de Paoli, P, Vallé, A, Garcia, E and Rousset, F (1991), Science 251, 70
- Cauldfield, MJ and Schaffer, D (1987), J. Immunol 138, 3680
- Ciavarella, N and Shiavoni, M (1992), Lancet 339, 1301
- Clyne, LP, Levy, A, Stein and McPhedran, P (1992), Thromb and Haemost 68, 475-476
- 15 - Dietrich, G, Algiman, M, Sultan, Y, Nydegger, UE, Kazatchkine, MD (1992), Blood 79, 2946-2951
- Ehrenforth, S, Kreuz, W, Scharrer, I, Linde, R, Funk, M, Gungor, T, Krackhardt, B and Kornhuber, B (1992), Lancet 20 339, 594-598
- Elder, B, lakich, D and Gitschier, J (1993), Genomics 16, 374-379
- Ewing, NP, Sanders, NL, Dietrich, SL and Kasper, CK (1988), JAMA 259, 65-68
- 25 - Fay, PJ (1993), Thromb Haemost 70, 63-67
- Fulcher, CA, Roberts, IZ, Holland, Tous and Zimmerman, Tous (1985), J.Clin Invest 76, 1117-1124
- Foster, PA, Fulcher, CA, Houghten, RA and Zimmerman, TS (1985), Blood 75, 1999-2004
- 30 - Gilles, JG, Armout, J, Vermylen, J and Saint-Rémy, JM (1991), XIVth Int Congress Allerg and Clin Immunol October 13-18
- Gilles, JG and Saint-Rémy, JM (1993a), XIVth Congress Int Soc thromb Haemost July 49
- 35 - Gomperts, ED, de Biasi, R and De Vreker, R (1992), Transfusion Med Rev 1, 44-54

- Gruppo, R (1991), Thromb Haemostas 65, 1168
- Halter, R, Carnwath, J, Espanon, G, Herrman, D, Lemme, E, Niemenn, H and Paul, D (1993), Thériogenology 39, 137-149
- Hay, CRM and Bolton-Maggs (1991), Transfusion Med Rev V,  
5 145-151
- Hedner, U and Tenborn (1985), Thromb Haemostas 54, 776-779
- Hultin, MB (1991), Am J. Med 91 (Suppl 5A), 23-27
- Hoyer, LW (1991), Am J. Med 91 (Suppl 5A), 405-409
- Ingerslev, J, Feldstedt, M and Sindet-Pedersen (1991),  
10 Lancet 338, 831-832
- Kalafatis, M, Rand, MD, Jenny, RJ, Erlich, YH and Mann, KG (1993), Blood 81, 704-709
- Kaufman, Rj (1992), Transfusion Med Rev VI, 235-246
- Kasper, CK, Aledort, LM, Edson, JR, Fratantone, J, Green,  
15 D et al (1975), Thrombos Diathes Haemorrh 34, 869
- Kemball-Cook, G and Barrowcliffe, TW (1992), Thromb Res 67, 57-71
- Kessler, CM (1991), Am J Med 91 (Suppl 5A), 15-19
- Kosbor, D and Roder, JC (1981), 127-1275
- 20 - Leroy, BL, Lachapelle, JM, Jacquemin, MG and Saint-Rémy, JMR (1992), Dermatology 184:271
- Leyte et al. (1989), Biochem J.263, 189-194
- Lian, ECY, Larcada, AF and Chiu, AZY (1989), Ann Int Med 110, 771-778
- 25 - Ljung, R, Petrini, P, Lindgren, AC, Tengborn, L and Nilsson, IM (1992), Lancet 339, 1550
- Lorenzo, JL, Garcia, R and Molina, R (1992), Lancet 339, 1551
- Lottenburg, R, Kentro, TB and Kitchins, CS (1987), 147,  
30 1077-1081
- Lozier, JN, Santagostino, E, Kasper, Ck, Teitel, JM and Hay, CRM (1993), Sem Hematol 30, 10-21
- Madhok, R, Smith, J, Jenkind, A and Lowe, GDO (1991), Br J Haematol 79, 235-238

- Mc Cune, LM, Namikawe, R, Kaneshima, H, Schultz, LD, Lieberman, M and Weissman, IL (1988), Sciences 241, 1632-1639
- Moreau, PH, Staikowsky, F, Laneelle, D, Dellile, F, Simonin, D, Schiffer, C and Laurian, Y (1993), Presse Méd 22, 472-479
- Mosler, DE, Gulizia, RJ, Baird, SB and Wilson, DB (1988), Nature 335, 256-259
- Nesheim, ME, Furmaniak-Kazmierczak, E, Henin, CH and Côté, G (1993), Thromb and Haemost 70, 80-86
- Nilsson, JM, Berntop, E, Zettervall, O and Dahlbäck, B (1990), Blood 10, 378-383
- Peerlinck, K, Arnout, J, Tamise, A, Vanherle, P, Fondu, P and Vermynen, J (1991), Acta Clin Belg 46, 298-304
- Peerlinck, K, Arnout, J, Gilles, JG, Saint-Rémy, JM and Vermynen, J (1993a), Thromb Haemost 69, 2, 115-118
- Peerlinck, K, Rosendaal, FR and Vermynen, J (1993b), Blood 81, 3332-3335
- Scandella, D, de Graaf Mahoney, S, Mattingly, M, Roeder, D, Timmons, L and Fulcher, CA (1985), Proc.Natl.Acad.Sci. USA 85, 6152-6156
- Scandella, D, Timmons, L, Mattingly, M, Trabold, N and Hoyer, LW (1992), Thromb Haemost 65, 1160
- Seremitis, S, Aledort, L, Lusher, M, Hilgartner, M, Mannucci, PM and Mariani, G (1991), Thromb Haemostas 65, 1160
- Smith, CIE, Habedi, M, Islam, KB, Johansson, MEB, Christenson, B and Hammerström, L (1991), Immunol Rev 124, 113-135
- Sultan, Y, Rossi, F and Kazatchkine, M (1987), Proc.Natl.Acad.Sci.84, 828-831
- Sultan, Y, White, GC, Aronstam, A, Bosser, C, Brackmann, HH et al (1986), Nouv Rev Fr Hematol 28, 85-89
- Sultan, Y and French Hemophilia Study Group (1992), Thromb Haemost 67, 600-602

- Svendsen, L, Brogli, M, Lindeberg, G and Stocker, K (1984),  
Thrombos Res 34, 457
- Triulzi, DJ, Heal, JM and Blumberg, N (1990), In  
5 "Transfusion Medecine in the 1990's", Ed. Nance, ST;  
American Association of Blood Banks; Arlington, Virginia
- Van Snick, J and Coulie, P (1982), J.Exp Med 155, 219
- Vermynen, J and Peerlinck, K (1991), Acta Clin Belg 46,  
419-420
- Wadhwa, M, Dilger, P, Tubbs, J, Barrowcliffe, T, Mahon, B  
10 and Thorpe, R (1992), Br J Haematol 82, 578-583
- Ware, J, MacDonald, MJ, Lo, M, de Graaf, S and Fulcher, CA  
(1992), Blood Coagul Fibrin 3, 703-716
- Webb, E, Tkalcevic, S, Hocking, D and Nisbet, I (1993),  
Biochem Biophys Res Commun 190, 536-543

REVENDICATIONS.

1. Séquence polypeptidique antigénique, caractérisée en ce qu'elle est la séquence polypeptidique du facteur VIII.

2. Séquence polypeptidique antigénique, caractérisée en ce que en ce qu'elle est dépourvue des fragments suivants : Alanine 322 - Sérine 750, Leucine 1655 - Arginine 1689, Lysine 1694 - Proline 1782 et Acide Aspartique 2170 - Tyrosine 2332.

3. Séquence selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce qu'elle est immunogénique.

4. Séquence selon la revendication 3, caractérisée en ce qu'elle présente une immunoaffinité avec des inhibiteurs du facteur VIII, de préférence avec des anticorps anti-facteur VIII.

5. Séquence selon la revendication 3 ou 4 caractérisée en ce qu'elle présente une immunoaffinité pour les récepteurs des lymphocytes T et/ou B.

6. Fragment antigénique de la séquence selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi le groupe constitué par les séquences polypeptidiques A1, A2, A3 ou C du facteur VIII.

7. Fragment antigénique de la séquence polypeptique A3 selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi le groupe constitué par le fragment de séquence compris entre l'Arginine 1652 et l'Arginine 1696, le fragment de séquence compris entre la Thréonine 1739 et l'Acide Aspartique 1831 et/ou le fragment de séquence compris entre l'Acide Glutamique 1885 et l'Arginine 1917.

8. Epitope de séquence du fragment selon la revendication 7 caractérisé en ce qu'il est choisi parmi le groupe constitué par :

- l'épitope compris entre l'Arginine 1652 et la Tyrosine 1664 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:1:

Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr

35

1

5

10

- l'épitope compris entre l'Acide Aspartique 1681 et l'Arginine 1696 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:2:

Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg  
5     1                     5                     10                     15 ,

- l'épitope compris entre la Thréonine 1739 et la Tyrosine 1748 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:3:

10 Thr Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr  
   1                     5                     10 ,

- l'épitope compris entre l'Asparagine 1777 et la Phenylalanine 1785 défini par la séquence suivante :

15 SEQ ID NO:4:

Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe  
   1                     5 ,

- l'épitope compris entre l'Acide Glutamique 1794 et la Tyrosine 1815 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:5:

Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro  
   1                     5                     10                     15  
Asn Glu Thr Lys Thr Tyr  
25                     20 ,

- l'épitope compris entre la Methionine 1823 et l'Acide Aspartique 1831 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:6:

30 Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp  
   1                     5 ,

- l'épitope compris entre l'Acide Glutamique 1885 et la Phenylalanine 1891 défini par la séquence suivante :

35 SEQ ID NO:7:

Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe  
   1                     5 ,

- l'épitope compris entre l'Acide Glutamique 1893 et l'Alanine 1901 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO: 8:

Glu Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala

5 1 5

- l'épitope compris entre l'Acide Aspartique 1909 et l'Arginine 1917 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:9:

10 Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Try Arg

1 5

9. Fragment antigénique de la séquence polypeptidique A1 selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'il est choisi entre l'Alanine 108 et la Méthionine 355, de préférence entre l'Alanine 108 et la Glutamine 228.

10. Epitope de séquence du fragment selon la revendication 9, caractérisé en qu'il est choisi parmi le groupe constitué par

- l'épitope compris entre l'Alanine 108 et la Valine  
20 128 défini par la séquence suivante :

SEW ID NO:10:

Ala Ser Glu Gly Ala Glu Try Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys

1                      5                      10                      15

Glu Asp Asp Lys Val

25 20

- l'épitope compris entre l'Acide Glutamique 181 et la Leucine 192 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:11:

30    Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu

1                      5                      10

- l'épitope compris entre l'Acide Aspartique 203 et la Glutamine 218 défini par la séquence suivante :

35 . SEQ ID NO:12:

Asp Glu Gly Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln

1                      5                      10                      15



- l'épitope compris entre l'Acide Aspartique 327 et la Méthionine 355 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:13:

Asp	Ser	Cys	Pro	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Arg	Met	Lys	Asn	Asn	Glu	Glu
5	1			5				10						15	
Ala	Glu	Asp	Tyr	Asp	Asp	Asp	Leu	Thr	Asp	Ser	Glu	Met			
				20				25							

11. Fragment antigénique de la séquence polypeptidique antigénique A2 selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'il est compris entre l'Acide Aspartique 403 et l'Acide Aspartique 725, de préférence entre l'Histidine 693 et l'Acide Aspartique 725.

12. Epitope de séquence du fragment selon la revendication 11, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi le groupe constitué par :

- l'épitope compris entre l'Acide Aspartique 403 et la Lysine 425 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:14:

Asp	Asp	Arg	Ser	Tyr	Lys	Ser	Gln	Tyr	Leu	Asn	Asn	Gly	Pro	Gln	Arg
20	1			5				10						15	
Ile	Gly	Arg	Lys	Tyr	Lys	Lys									
								20							

- l'épitope compris entre la Valine 517 et l'Arginine 527 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:15:

Val	Glu	Asp	Gly	Pro	Thr	Lys	Ser	Asp	Pro	Arg
1				5				10		

- l'épitope compris entre l'Histidine 693 et la Glycine 701 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:16:

His	Asn	Ser	Asp	Phe	Arg	Asn	Arg	Gly
1				5				

- l'épitope compris entre la Sérine 710 et l'Acide Aspartique 725 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:17:

Ser Cys Aso Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Try Gly Asp Ser Tyr Glu Asp  
1 5 10 15

13. Fragment antigénique de la séquence  
5 polypeptidique antigénique C selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'il est compris entre la Lysine 2085 et la Lysine 2249, de préférence entre la Lysine 2085 et la Glycine 2121.

14. Epitope de séquence du fragment selon la  
10 revendication 13, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi le groupe constitué par :

- l'épitope compris entre la Lysine 2085 et la Phénylalanine 2093 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:18:

15 Lys Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe  
1 5

- l'épitope compris entre l'Acide Aspartique 2108 et la Glycine 2121 défini par la séquence suivante :

20 SEQ ID NO:19:

Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly  
1 5 10

- l'épitope compris entre la Glycine 2242 et la  
25 Lysine 2249 défini par la séquence suivante :

SEQ ID NO:20:

Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys  
1 5

15. Partie forte des fragments et/ou des épitopes  
30 selon l'une quelconque des revendications précédentes 6 à 14, caractérisée en ce qu'elle comprend l'acide aminé Tyrosine et/ou l'acide aminé Histidine lié à au moins deux autres acides aminés identiques ou différents.

16. Epitope conformationnel caractérisé en ce qu'il  
35 comprend au moins deux fragments différents, au moins deux épitopes différents et/ou au moins deux parties fortes différentes selon l'une quelconque des revendications

précédentes 6 à 15.

17. Complexe comprenant une protéine porteuse ou un peptide porteur lié à un élément choisi parmi le groupe constitué par la séquence, le fragment, l'épitope et/ou la  
5 partie forte d'un épitope ou d'un fragment selon l'une quelconque des revendications précédentes.

18. Inhibiteur du facteur VIII caractérisé en ce qu'il présente une immunoaffinité avec la séquence, le fragment, l'épitope, la partie forte d'un épitope ou d'un  
10 fragment et/ou le complexe selon l'une quelconque des revendications précédentes.

19. Inhibiteur selon la revendication 18, caractérisé en ce qu'il est un anticorps ou un fragment d'anticorps anti-facteur VIII.

15 20. Anti-inhibiteur caractérisé en ce qu'il est dirigé contre l'inhibiteur du facteur VIII selon la revendication 18 ou 19.

21. Anti-inhibiteur selon la revendication 20, caractérisé en ce qu'il est un anticorps ou un fragment  
20 d'anticorps anti-idiotypique anti-facteur VIII.

22. Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un élément choisi parmi le groupe constitué par la séquence, le fragment, l'épitope, la partie forte, le complexe, l'inhibiteur et/ou l'anti-inhibiteur selon  
25 l'une quelconque des revendications précédentes.

23. Dispositif de diagnostic et/ou de purification caractérisé en ce qu'il comprend au moins un élément choisi parmi le groupe constitué par la séquence, le fragment, l'épitope, la partie forte, le complexe, l'inhibiteur et/ou  
30 l'anti-inhibiteur selon l'une quelconque des revendications précédentes 1 à 21.

24. Dispositif selon la revendication 23, caractérisé en ce qu'il est une trousse de diagnostic.

25. Dispositif selon la revendication 23, caractérisé  
35 en ce qu'il est une colonne de chromatographie.

26. Utilisation de la composition pharmaceutique

selon la revendication 22 pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention et/ou à la thérapie de désordres immunitaires.

27. Utilisation selon la revendication 26, caractérisée en ce que les désordres immunitaires sont des désordres induits par les inhibiteurs du facteur VIII, les inhibiteurs de la liaison du facteur VIII au facteur de von Willebrand et/ou les inhibiteurs de la liaison du facteur VIII aux phospholipides membranaires.

28. Procédé de traitement thérapeutique et/ou préventif de désordres immunitaires, caractérisé en ce que l'on administre à un patient la composition pharmaceutique selon la revendication 22.

29. Procédé de traitement thérapeutique et/ou préventif selon la revendication 28, caractérisé en ce que les désordres immunitaires sont des désordres induits par les inhibiteurs du facteur VIII, les inhibiteurs de la liaison du facteur VIII au facteur de von Willebrand et/ou les inhibiteurs de la liaison du facteur VIII aux phospholipides membranaires.

30. Procédé d'identification et d'obtention d'inhibiteurs et/ou d'anti-inhibiteurs selon l'une quelconque des revendications précédentes 18 à 21, caractérisé en ce que l'on fixe sur un support solide d'une colonne de chromatographie un élément choisi parmi le groupe constitué par la séquence, le fragment, l'épitope, la partie forte et/ou le complexe selon l'une quelconque des revendications précédentes 1 à 17, en ce que l'on fait passer sur ladite colonne de chromatographie un liquide physiologique, d'un patient comprenant des inhibiteurs du facteur VIII, en ce que l'on élue et on recueille la fraction des inhibiteurs du facteur VIII ayant présenté une immunoaffinité avec au moins un élément choisi parmi le groupe constitué par la séquence, le fragment, l'épitope, la partie forte et/ou le complexe selon l'une quelconque des revendications précédentes 1 à 17, et éventuellement en ce ledit procédé comporte les étapes suivantes : on fixe lesdits inhibiteurs du facteur VIII

recueillis sur le support solide d'une colonne de chromatographie, on fait passer sur ladite colonne, des anti-inhibiteurs du facteur VIII, tels que des anticorps anti-idiotypiques anti-Facteur VIII, on élue et on recueille les  
5 anti-inhibiteurs ayant présenté une immunoaffinité avec les inhibiteurs du facteur VIII.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**